

Dissertação – Artigo de Revisão Bibliográfica

Mestrado Integrado em Medicina

2016/2017

**POTENCIAL DOS BIOMARCADORES ANGIOGÉNICOS SFLT1 E
PLGF NA PREDIÇÃO E ABORDAGEM DA PRÉ-ECLÂMPSIA**

Autor: Marta Sofia Pereira Amaral

Endereço: martaspamaral@gmail.com

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Orientadora: Dra. Cristina Maria da Conceição Dias Monteiro

Assistente Hospitalar Graduada

Porto, 2017

Agradecimentos

À Dra. Cristina Dias, por toda a disponibilidade e amabilidade com que me presenteou ao longo destes meses. O seu profissionalismo, dedicação e entrega foram essenciais para a realização deste trabalho, tornando-a um exemplo merecedor de reconhecimento.

À minha mãe que sempre fez os impossíveis para que a minha vinda para a universidade e a finalização deste curso se pudesse tornar em muito mais que um sonho, uma realidade. A todo o esforço, amor, dedicação e, principalmente, aos valores de humildade, generosidade e honestidade que sempre me transmitiu. São estes que irei recordar em cada dia do exercício da minha profissão.

À restante família, em especial à minha avó, por sempre me apoiarem e acreditarem no meu valor.

Aos amigos, não só pelo que me transmitiram ao longo destes anos e por toda as recordações que criámos, mas sobretudo por me deixarem a garantia de que nada terminará por aqui.

Ao Ricardo, por toda a força, carinho, companhia, amizade e compreensão ao longo destes anos. Por nunca se cansar de me mostrar que tudo é possível se tivermos fé, por sempre me conseguir roubar um sorriso nos momentos mais difíceis... Grande parte do meu sucesso é devido a ele!

Índice

I. Introdução	1
II. Material e Métodos.....	3
III. Desenvolvimento.....	4
1. Biomarcadores angiogénicos na fisiopatologia da PE	4
1.1 VEGF e PlGF	4
1.2 sFlt1	5
1.3 Papel na fisiopatologia da PE.....	6
1.4 Evolução dos biomarcadores na gravidez	7
2. Utilidade clínica dos biomarcadores PlGF e sFlt1	9
2.1 Prevenção e predição de PE	10
2.1.1 1º T Identificação de grávidas de alto risco.....	11
2.1.2 2º/3º T Abordagem na suspeita de PE e <i>screening</i> de grávidas de alto risco ...	12
2.2 Estratificação da gravidade e predição de <i>outcomes</i> adversos.....	15
2.3 Diagnóstico diferencial	18
2.4 Desenvolvimento de estratégias terapêuticas.....	19
3. Impacto na decisão clínica.....	21
4. Impacto económico	22
5. Limitações e situações especiais.....	23
6. Proposta de algoritmo	25
IV. Conclusões e Perspetivas Futuras.....	26
V. Referências	27
VI. Anexos	34

Índice de figuras

Figura 1 – Biomarcadores angiogénicos na fisiopatologia da PE	6
Figura 2 – Evolução do PlGF e sFlt1 na gestação normal e na PE	8
Figura 3 – Evolução do sFlt1 e PlGF na PE precoce e na PE tardia	9
Figura 4 – Variações do rácio sFlt1/PlGF na PE precoce e tardia	9
Figura 5 - Concentração materna sérica do rácio sFlt1/PlGF ao longo da gestação	13
Figura 6 – Relação entre os níveis séricos de PlGF o intervalo até ao parto	16
Figura 7 – Relação entre os níveis séricos dos biomarcadores angiogénicos e o tempo de internamento nas unidades de cuidados intensivos neonatais	17
Figura 8 – Impacto do rácio sFlt1/PlGF na decisão clínica	22
Figura 9 – Proposta de algoritmo	25

Índice tabelas

Tabela 1 – Aplicações clínicas potenciais dos biomarcadores angiogénicos	10
--	----

Abreviaturas

% - percentagem

< - “antes de” ou “inferior a”

> “superior a” ou “após”

AAS – Ácido acetilsalicílico

ALT – alanina-aminotransferase

AUC – área sob a curva, do inglês *area under the curve*

DAU – Fluxometria *Doppler* da Artéria Uterina

DRC – Doença Renal Crónica

Esp - Especificidade

Flt1 – do inglês *Fms-like tyrosine kinase - 1*

HELLP – do inglês *Haemolysis, Elevated Liver enzymes; Low Platelet count*

HTA – Hipertensão arterial

IG – Idade Gestacional

KDR – do inglês *Kinase domain region*

LES – Lúpus Eritmatoso Sistémico

mRNA – Ácido Ribonucleico mensageiro

NHS – do inglês *National Health Service*

NICE – do inglês *National Institute for Health and Care Excellence*

P - Percentil

PAM – Pressão Arterial Média

PAPP-A – do inglês *pregnancy-associated plasma protein-A*

PAS – Pressão arterial sistólica

PE – Pré-eclâmpsia

PlGF – do inglês *Placental Growth Factor*

RCF – Restrição de Crescimento Fetal

RN-LIG – Recém-Nascidos leves para a idade gestacional

SAF – Síndrome Antifosfolípídico

Sens - Sensibilidade

sFlt-1 – do inglês *soluble FMS-like tyrosine kinase 1*

T – Trimestre

TFP – Taxa de falsos positivos

UCIN – Unidade de cuidados intensivos neonatais

VEGF – do inglês *Vascular Endothelial Growth Factor*

VPN – Valor Preditivo Negativo

VPP – Valor Preditivo Positivo

Resumo

Introdução: A pré-eclâmpsia complica cerca de 3-5% das gestações, constituindo uma das principais causas de morbimortalidade materna e fetal. Apesar do melhor conhecimento da sua fisiopatologia, a capacidade preditiva e diagnóstica continua assente em parâmetros clínicos variáveis e não específicos. A descoberta de que os fatores angiogénicos PlGF, VEGF e sFlt1 poderão estar na base da disfunção endotelial e do quadro clínico tem motivado várias investigações, com resultados promissores.

Objetivos: Procurar reunir os conhecimentos mais recentes acerca dos fatores angiogénicos, em particular o sFlt1 e o PlGF, o seu papel no desenvolvimento de pré-eclâmpsia e o potencial contributo da sua implementação na prática clínica.

Desenvolvimento: Grande parte das evidências têm mostrado de forma consistente que a pré-eclâmpsia é marcada pela existência de um estado anti-angiogénico, consequência do aumento do sFlt1 e diminuição do PlGF e VEGF. Vários estudos têm mostrado que estas alterações são mais acentuadas nos casos de pré-eclâmpsia precoce, permitindo que estes biomarcadores constituam uma boa ferramenta preditiva da doença, particularmente quando utilizados no 2º e 3º trimestre da gestação. Além disso, têm mostrado resultados promissores noutras áreas, nomeadamente na estratificação da gravidade da doença, predição de *outcomes* adversos, diagnóstico diferencial e como base ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

Conclusões: O reconhecimento de que os fatores angiogénicos sFlt1, PlGF e VEGF se associam ao desenvolvimento de pré-eclâmpsia trouxe descobertas importantes para a abordagem desta patologia. Atualmente, as evidências existentes parecem ser suficientes para assegurar a utilização do PlGF e do rácio sFlt1/PlGF na abordagem de grávidas com suspeita de pré-eclâmpsia no 2º e 3º trimestre de gestação, em particular para a exclusão da doença. Apesar dos resultados promissores noutros campos, continuam a ser necessários novos estudos de forma a que no futuro estes marcadores possam constituir uma ferramenta segura e útil neste contexto.

Palavras-chave

Pré-eclâmpsia, disfunção placentar, predição, biomarcadores angiogénicos, sFlt1, PlGF

Abstract

Introduction: Pre-eclampsia complicates about 3-5% of pregnancies, being one of the main causes of maternal and fetal morbidity and mortality. Despite the better knowledge of its physiopathology, the predictive and diagnostic capacity continues based on variable and non-specific clinical parameters. The finding that the angiogenic factors PlGF, VEGF and sFlt1 may be the basis of endothelial dysfunction and the clinical picture has motivated several investigations with promising results.

Objectives: To gather the latest knowledge about angiogenic factors, in particular, PlGF and sFlt1, its role in the development of preeclampsia and the potential contribution of its implementation in clinical practice.

Development: Much of the evidence has consistently shown that preeclampsia is marked by the existence of an anti-angiogenic state, a consequence of increased sFlt1 and a decrease in PlGF and VEGF. Several studies have shown that these changes are more pronounced in cases of early preeclampsia, allowing these biomarkers to be a good predictor of the disease, particularly when used in the second and third trimesters of pregnancy. In addition, they have shown promising results in other areas, namely in the stratification of disease severity, prediction of adverse outcomes, differential diagnosis and as a basis for the development of new therapeutic strategies.

Conclusions: The recognition that the angiogenic factors sFlt1, PlGF, and VEGF are associated with the development of pre-eclampsia has brought important findings to the approach of this pathology. Currently, existing evidence appears to be sufficient to ensure the use of PlGF and the sFlt1 / PlGF ratio in the approach of pregnant women suspected of preeclampsia in the second and third trimesters of pregnancy, in particular for the exclusion of the disease. Despite promising results in other fields, further studies are still needed so that in the future these markers may be a safe and useful tool in the context of preeclampsia.

Key-words

Pre-eclampsia, placental dysfunction, prediction, angiogenic biomarkers, sFlt1, PlGF

I. Introdução

A Pré-eclâmpsia (PE), juntamente com a eclâmpsia, PE sobreposta, hipertensão crónica e hipertensão gestacional, constituem o espectro de distúrbios hipertensivos da gravidez⁽¹⁾. No conjunto, estes continuam a ser uma das principais causas de morbimortalidade materna e fetal, complicam 6% das gestações em Portugal e são responsáveis por 14% dos casos de mortalidade materna em todo o mundo ⁽²⁻⁴⁾. Estima-se que a PE ocorra em cerca de 3-5% das gestações, com Portugal a registar uma incidência de 1.4%^(2, 4).

A PE é definida pelo aparecimento de hipertensão e proteinúria de novo, após as 20 semanas de gestação⁽¹⁾. Na ausência de proteinúria, o diagnóstico pode ser feito pelo aparecimento de hipertensão em conjunto com evidência de doença sistémica (trombocitopenia, níveis elevados de transaminases hepáticas, insuficiência renal, edema pulmonar e alterações neurológicas ou visuais)⁽¹⁾. De acordo com a idade gestacional de início da doença, esta pode ser classificada em precoce (< 34 semanas) ou tardia (\geq 34 semanas)⁽⁵⁾. Outros autores preferem a nomenclatura PE pré-termo (se parto < 37 semanas) ou de termo (se parto > 37 semanas) podendo ainda ser encontradas referências a outras classificações^(6, 7). A falta de consenso no que diz respeito à nomenclatura de esta e outras partes do tema, torna muitas vezes difícil a validação dos achados.

Além do impacto na mortalidade materna e fetal, a PE constitui uma importante causa de prematuridade, restrição de crescimento fetal (RCF) e de *outcomes* fetais adversos⁽⁶⁾. A longo prazo, os fetos expostos apresentam um risco aumentado de paralisia cerebral, doenças hipertensivas, patologia cardiovascular e distúrbios metabólicos^(2, 8). Apesar do seu carácter agudo e limitado, é aceite que a PE também se associa a *outcomes* maternos adversos, contando com um aumento significativo do risco de hipertensão crónica, doença cardiovascular e acidente vascular cerebral^(9, 10).

Apesar dos avanços conseguidos nos últimos anos no que respeita à compreensão da fisiopatologia desta doença, a capacidade preventiva, diagnóstica e terapêutica não acompanhou essa evolução⁽¹¹⁾. Os métodos de diagnóstico da PE mantiveram-se inalterados nos últimos 20-30 anos, permanecendo assentes na avaliação de parâmetros clínicos amplamente variáveis e não específicos^(12, 13). O seu valor torna-se particularmente limitado em situações em que os marcadores são consequência de outras patologias ou se encontram previamente alterados (ex. hipertensão crónica e doença renal

crónica (DRC)), além de que carecem de capacidade preditiva no que diz respeito aos *outcomes* adversos maternos e fetais^(14, 15). Da mesma forma, o tratamento desta entidade permanece dirigido aos sintomas e assente na interrupção da gravidez, não tendo ainda sido possível o desenvolvimento de estratégias terapêuticas específicas⁽⁸⁾. O uso profilático de ácido acetilsalicílico (AAS) diário, em baixa dose, constitui a ação preventiva mais consensual, sendo apenas eficaz quando iniciado até às 16 semanas em grávidas com risco elevado de PE⁽¹⁶⁾.

A PE é uma doença complexa não só no que respeita à sua apresentação clínica, mas também à ampla heterogeneidade de mecanismos fisiopatológicos envolvidos na sua génese⁽¹⁷⁾. De facto, ainda que todo o processo não esteja completamente estabelecido, sabe-se hoje em dia que a disfunção placentar e endotelial constituem um papel essencial a esse nível^(18, 19). Acredita-se que numa primeira fase, uma invasão deficiente do trofoblasto resulte numa perfusão placentar inadequada com consequente hipoxia, stress oxidativo e inflamação. A isquemia placentar é responsável pela libertação de fatores solúveis na circulação materna que, ao induzirem disfunção endotelial, permitem o aparecimento do síndrome clínico^(11, 20). Evidências crescentes têm sugerido um papel central dos fatores angiogénicos de origem placentar como ponte de ligação entre a disfunção placentar e o surgimento do quadro clínico materno^(20, 21). O *Placental Growth Factor* (PlGF) e o *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) constituem as principais moléculas pro-angiogénicas, enquanto o *soluble FMS-like tyrosine kinase-1* (sFlt1) é um potente fator anti-angiogénico. Estudos epidemiológicos têm mostrado alterações consistentes nas concentrações destes marcadores nos casos de PE, não só ao diagnóstico como também antes do desenvolvimento do síndrome clínico^(21, 22).

A PE e as complicações a ela associadas, em conjunto com a ausência de estratégias preditivas, diagnósticas e terapêuticas, constituem ainda um importante problema de saúde pública a nível global⁽⁶⁾. Dúvidas no diagnóstico e a ausência de métodos confirmatórios levam a admissões desnecessárias de grávidas com suspeita de PE, com custos e gastos de saúde importantes⁽²³⁾. Um melhor conhecimento dos fatores envolvidos na base fisiopatológica da PE, bem como a sua potencial utilização, poderá vir a ser uma ferramenta de grande utilidade nesta doença. Assim, esta revisão tem por objetivo procurar reunir os conhecimentos mais recentes acerca dos fatores angiogénicos, em particular o PlGF e o sFlt1, o seu papel no desenvolvimento de PE e o potencial contributo da sua implementação na prática clínica.

II. Material e Métodos

Para a elaboração desta revisão foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados eletrónica PubMed, entre setembro e dezembro de 2016. Para a pesquisa foram utilizadas as palavras-chave supracitadas, em inglês, restringindo-se a dados publicados entre janeiro de 2012 e dezembro de 2016.

Após leitura do título e resumo dos 219 artigos iniciais, 126 foram excluídos por não irem de encontro os objetivos do trabalho ou não se encontrarem disponíveis. Além dos artigos sobrantes, foram também alvo de análise várias referências bibliográficas dos mesmos.

III. Desenvolvimento

1. Biomarcadores angiogénicos na fisiopatologia da PE

Já desde a década de 80 que alguns autores propuseram a hipótese de que a PE é resultado do efeito a nível endotelial promovido por mediadores libertados pela placenta, no entanto, só mais recentemente é que os fatores angiogénicos se tornaram alvo de grande interesse nesse campo⁽²⁴⁾. Desde 2003 que se tem observado um aumento significativo de publicações evidenciando o desequilíbrio destes biomarcadores, em particular do sFlt1, PlGF e VEGF, não só aquando do diagnóstico de PE, mas também nos dias que precedem o quadro clínico^(20, 25, 26).

1.1 VEGF e PlGF

O VEGF e o PlGF, um membro de uma subfamília do VEGF, são os fatores pro-angiogénicos que mais têm sido avaliados nos últimos anos. O VEGF é um potente fator pró-angiogénico com origem em diferentes células, em especial macrófagos, células T, células tumorais e citotrofoblasto, e que atua diretamente nas células endoteliais aumentando a permeabilidade vascular, proliferação e crescimento endotelial^(7, 27). Este desempenha, ainda, um papel importante na angiogénese e integridade endotelial, constituindo um potenciador da vasodilatação através da síntese de óxido nítrico e de prostaciclina⁽¹⁷⁾. Um quadro semelhante ao observado na PE, com desenvolvimento de hipertensão e proteinúria, é um dos principais efeitos adversos em doentes oncológicos tratados com inibidores do VEGF (*bevacizumab*)⁽²⁸⁾. Estes dados vão de encontro à hipótese de que os baixos níveis deste biomarcador podem desempenhar um papel importante na fisiopatologia da PE^(22, 28).

Tendo em conta a maior afinidade do VEGF para o sFlt1, as concentrações plasmáticas deste biomarcador em condições normais são reduzidas, frequentemente abaixo do nível de deteção da maioria dos métodos laboratoriais atuais^(21, 28). Isto limita a sua utilidade clínica, o que faz do PlGF a molécula pro-angiogénica de eleição⁽²⁸⁾. O VEGF exerce os seus efeitos biológicos através de dois recetores de tirosina-cinase de alta afinidade, o recetor Flt1 (*Fms-like tyrosine kinase-1*) (também chamado VEGF-1) e o KDR (*Kinase domain region*) (também chamado VEGF-2), sendo este último o mais amplamente envolvido na sinalização e integridade endotelial^(29, 30).

Apesar do PlGF e o VEGF partilharem uma homologia de cerca de 50%, o primeiro apenas tem afinidade para o Flt1, limitando a ligação deste recetor ao VEGF. Como consequência, uma maior biodisponibilidade de VEGF favorece a sua ligação ao KDR, contribuindo para uma adequada integridade endotelial^(24, 29).

O PlGF é também um fator pro-angiogénico amplamente produzido pela placenta, em particular pelo sinciciotrofoblasto, e em menor quantidade pelas células endoteliais, inflamatórias e cardiomiócitos⁽³¹⁾. Em conjunto com a sua capacidade potenciadora do efeito do VEGF, o PlGF desempenha um papel essencial em processos base para uma correta placentação e embriogénese^(15, 32).

1.2 sFlt1

O sFlt1 resulta do *splicing* alternativo do ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) que codifica o recetor Flt1, originando uma proteína desprovida de domínio transmembranar e citoplasmático, sem capacidade de ligação ao VEGF ou PlGF nas células⁽¹⁵⁾. Pelo contrário, esta forma solúvel do recetor Flt1 captura os fatores pro-angiogénicos em circulação, impedindo a sua interação com os recetores membranares⁽⁷⁾. Como consequência, as ações do VEGF e PlGF são antagonizadas, favorecendo o aparecimento de disfunção endotelial e vasoconstrição materna⁽³²⁾. O sinciciotrofoblasto placentar constitui a fonte principal de sFlt1, podendo também ter origem em macrófagos, células mononucleares, endoteliais e musculares lisas^(5, 20). Ainda que possa ser doseado na circulação fetal, os níveis deste biomarcador são significativamente mais baixos que os encontrados na circulação materna, tornando o contributo fetal para os níveis elevados negligenciável⁽³³⁾.

Os mecanismos responsáveis por favorecer esta via alternativa de *splicing* ainda não são totalmente conhecidos, mas pensa-se que a hipoxia placentar seja o principal indutor da produção de sFlt1, podendo-se também contar com o contributo de processos inflamatórios e imunológicos^(29, 34). A figura 1 resume as interações entre os três biomarcadores.

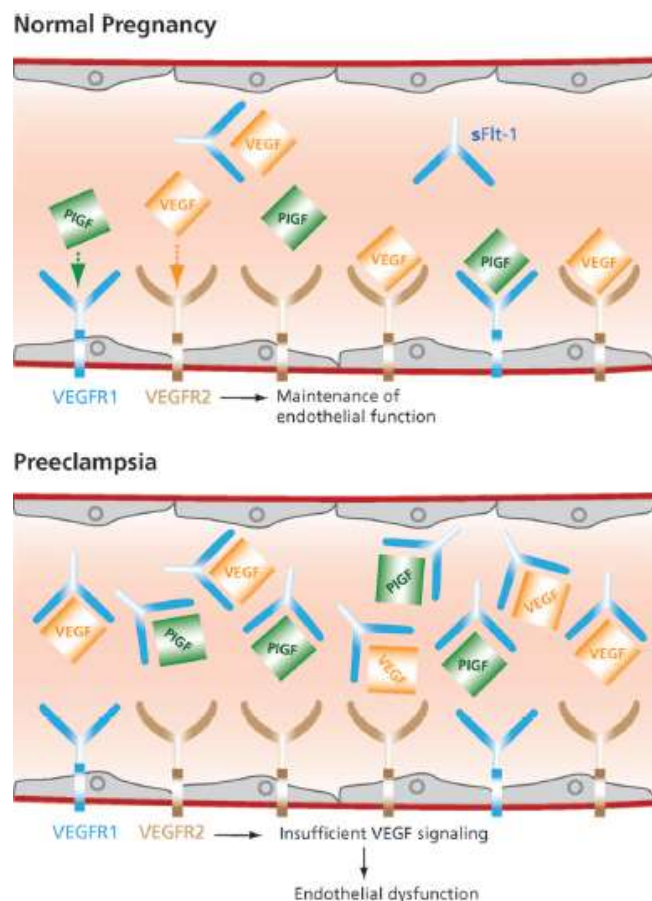


Figura 1 – Biomarcadores angiogénicos na fisiopatologia da PE (*Adaptado de Hagmann et al., 2012*)

1.3 Papel na fisiopatologia da PE

Maynard et al foram dos principais investigadores responsáveis pelos primeiros passos no que respeita ao envolvimento destes marcadores na fisiopatologia da PE⁽³⁵⁾. Estes autores observaram níveis aumentados de mRNA codificante de sFlt1 na placenta de gestantes que desenvolveram PE, acompanhados de níveis séricos elevados deste marcador. Ao mesmo tempo, registaram uma diminuição proporcional nos níveis de PlGF e de VEGF, cuja administração exógena se mostrou capaz de reverter os efeitos do sFlt1. O papel destes biomarcadores na PE foi reforçado pelo facto de conseguirem induzir um fenótipo característico desta patologia (com hipertensão, proteinúria e endoteliose glomerular) ao administrarem sFlt1 em modelos animais em gestação⁽³⁵⁾. Outros grupos de investigadores têm publicado achados semelhantes, contribuindo para a aceitação do papel dos fatores angiogénicos na fisiopatologia da PE⁽³⁶⁻³⁸⁾.

A determinação de níveis séricos elevados de sFlt1 em condições reconhecidas como fatores de risco de PE, têm também contribuindo para uma maior aceitação desta hipótese^(34, 39). Na gravidez gemelar, o risco de PE é cerca de 2-3 superior em comparação com o observado nas gestações de feto único. O aumento nos níveis séricos de sFlt1 que se tem observado nas gestações gemelares pode justificar o elevado risco de PE nestas situações, possivelmente em consequência da maior massa placentar produtora de maior quantidade de fator⁽⁴⁰⁾. Também na trissomia 13 se têm observado um perfil anti-angiogénico. Uma vez que o gene codificante do sFlt1 se encontra no cromossoma 13, o excesso de dose genética poderá ser responsável por uma maior produção deste biomarcador, justificando o risco aumentado de PE nestas gestações⁽⁴¹⁾. Também nas gravidezes com base na fertilização “*in vitro*” foram detetados níveis alterados no balanço angiogénico, favorecendo a hipótese de que a disfunção placentar está na base do risco aumentado de PE neste grupo de grávidas^(41, 42). Pelo contrário, níveis baixos de sFlt1 têm sido encontrados em mulheres fumadoras, nas quais o risco de PE parece ser menor⁽³⁴⁾.

1.4 Evolução dos biomarcadores na gravidez

Nas gestações normais, o PlGF pode ser detetado a partir da 8ª semana de gestação, evidenciando um aumento progressivo até às 29-33 semanas, altura em que atinge o seu valor máximo e inicia uma fase descendente até ao parto^(21, 22, 43). Em mulheres que não se encontram grávidas, os níveis de PlGF são praticamente indetetáveis^(7, 31). Pelo contrário, os níveis séricos de sFlt1 parecem manter-se estáveis até às 30 semanas de gestação, altura em que começam a aumentar até ao parto, de tal forma que parece existir uma relação inversa comparativamente aos níveis de PlGF^(15, 21, 22).

Na PE, os níveis dos fatores angiogénicos parecem exibir um padrão semelhante ao observado nas gestações normais, no entanto, a diminuição nos níveis de PlGF e o aumento do sFlt1 ocorrem de forma mais precoce e pronunciada, favorecendo um estado anti-angiogénico⁽²²⁾. A diminuição nos níveis séricos maternos de PlGF pode ser detetada tão cedo quanto as 10-11 semanas nas gestantes que vão desenvolver PE, ao passo que, antes das 20 semanas, as variações no sFlt1 não parecem ser significativas^(44, 45) (Figura 2). Ainda que estas alterações tenham início cerca de 9-11 semanas antes do desenvolvimento do síndrome clínico evidente, as mesmas tornam-se particularmente acentuadas nas 5 semanas precedentes, em particular no caso do sFlt1⁽²²⁾. Vários estudos têm mostrado de forma consistente esta evolução^(25, 26, 46). Em alternativa à avaliação dos

níveis dos marcadores angiogénicos de forma isolada, o rácio sFlt1/PlGF tem sido proposto como um valioso índice de atividade angiogénica, sendo atualmente o marcador angiogénico de eleição na prática clínica^(26, 43).

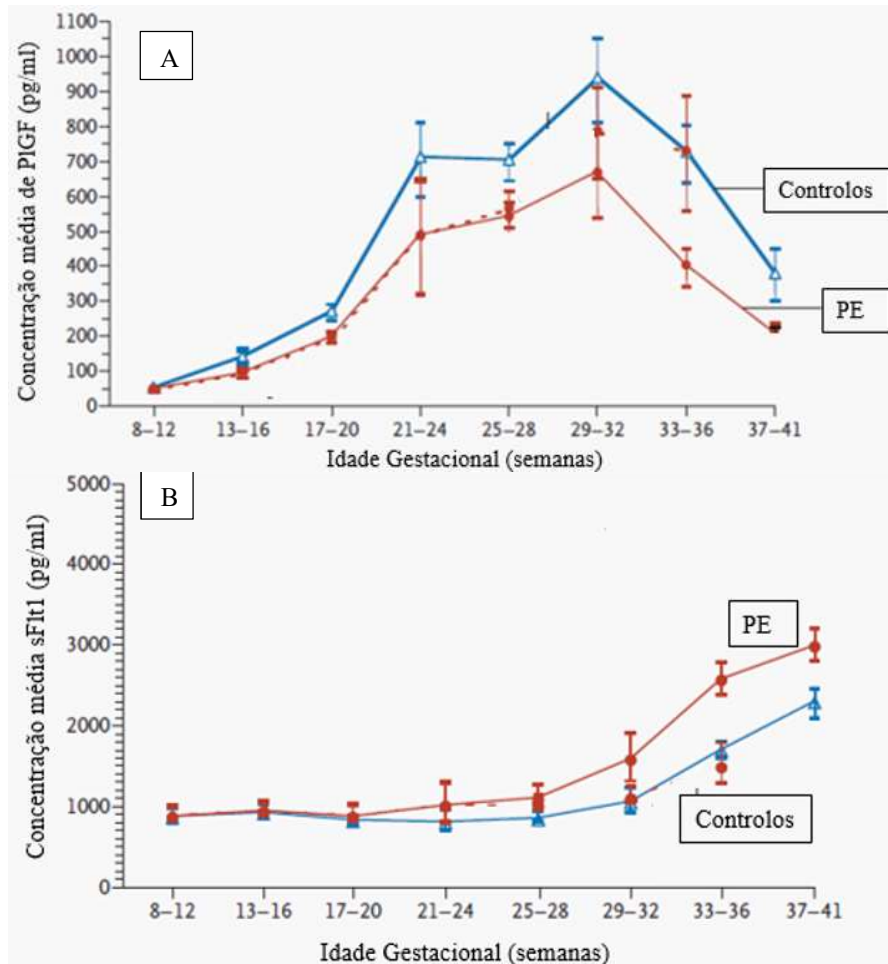


Figura 2 – Evolução do PlGF e do sFlt1 na gestação normal e na PE (*Adaptado de Levine et al., 2004*)
O painel A mostra a evolução dos níveis séricos médios de PlGF enquanto no painel B se encontram representados os níveis séricos médios de sFlt1. Em ambos, a azul encontram-se representados os controlos (gestações que evoluíram sem intercorrências) e a vermelho os casos que vieram a desenvolver PE nalgum momento da gestação.

Apesar das alterações nos níveis séricos dos fatores angiogénicos serem transversais à PE, as mesmas têm-se mostrado mais pronunciadas nos casos de PE precoce, em comparação com a tardia^(47, 48) (Figura 3). Estes achados suportam a hipótese de que ambas correspondam a entidades independentes, com uma base fisiopatológica distinta⁽⁴⁹⁾. Ao passo que a PE precoce parece estar associada a uma placentação anormal com alterações histológicas significativas, a PE tardia associa-se mais comumente à existência de fatores de risco cardiovasculares maternos como hipertensão crónica, obesidade e resistência à insulina^(15, 49). Na PE tardia, a existência de fatores lesionais prévios poderá ser responsável por dano endotelial basal de tal forma que o

desenvolvimento de PE ocorre para um limiar inferior de desequilíbrio angiogénico. Isto poderá justificar as variações menos marcadas que se tem observado nos casos de PE tardia⁽⁴⁷⁾ (Figura 4).

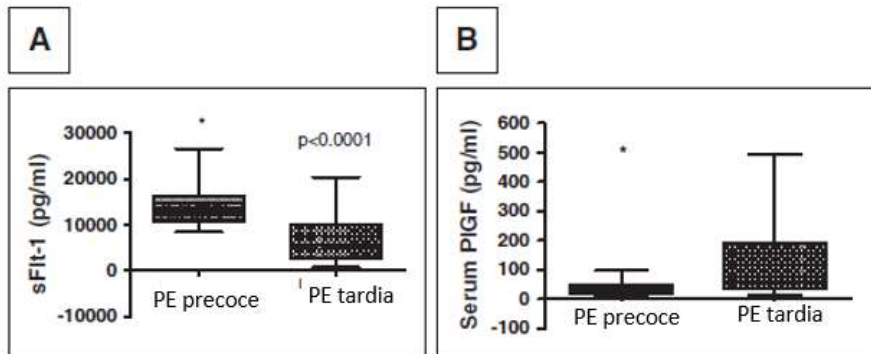


Figura 3 – Evolução de sFlt1 e PlGF na PE precoce e tardia (*Adaptado de Pinheiro et al., 2014*)
A figura realça a variação nos níveis séricos de sFlt1 (painel A) e PlGF (painel B) nos casos de PE precoce (<34 semanas) e PE tardia (>34 semanas).

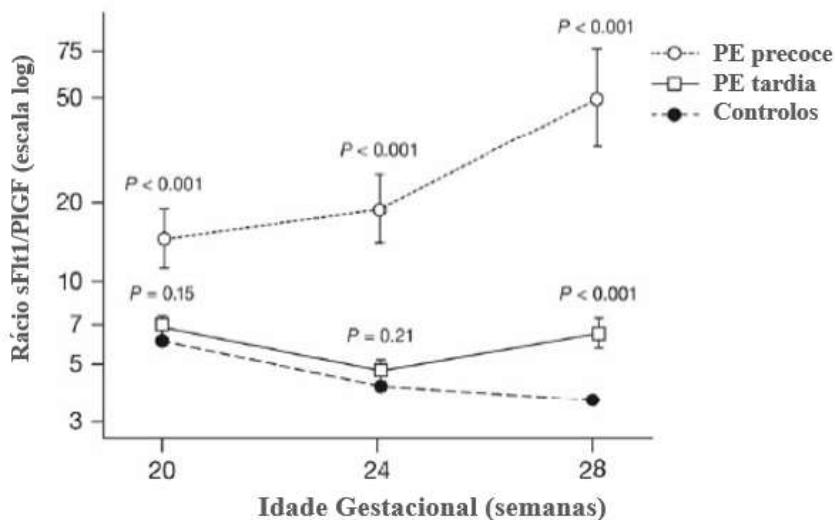


Figura 4 – Variação do rácio sFlt1/PlGF na PE precoce e tardia (*Adaptado de Perales et al., 2016*)
O rácio sFlt1/PlGF encontra-se mais elevado nos casos de PE, comparativamente aos controlos (gestações sem intercorrências). No entanto, o aumento é mais acentuado nos casos de PE precoce do que na PE tardia.

2. Utilidade clínica dos biomarcadores PlGF e sFlt1

A descoberta de que um desequilíbrio nos níveis séricos dos biomarcadores angiogénicos se relaciona com o desenvolvimento de PE e que o mesmo precede o aparecimento do síndrome clínico, tem inspirado grandes trabalhos no que respeita às possíveis aplicações destes fatores na prática clínica. A tabela 1 resume as principais

situações nas quais a utilização dos marcadores angiogénicos pode vir a melhorar a abordagem de gestantes com PE.

Tabela 1 – Aplicações clínicas potenciais dos biomarcadores angiogénicos

	Comentário
Predição e Prevenção de PE	- 1ºT (11-13 semanas): seleção de gestantes de alto risco que poderão beneficiar de estratégias profiláticas como AAS em baixa dose (modelos combinados que incluem o PlGF); - 2º e 3ºT: - abordagem de gestantes com suspeita de PE (rácio sFlt1/PlGF ou PlGF isolado): teste negativo (rácio <38 ou PlGF <100) exclui PE numa semana - <i>screening</i> de grávidas de alto risco (24-28 semanas)
Estratificação de gravidade	O grau de alteração dos fatores angiogénicos parece relacionar-se de forma direta com a gravidade dos casos de PE e inversamente com o intervalo de tempo desde o doseamento, até à necessidade de parto pela doença. Um rácio <38 tem elevado valor preditivo negativo para a necessidade de parto por PE no prazo de uma semana.
Predição de <i>outcomes</i> adversos materno e fetais	Desequilíbrio angiogénico parece associar-se a aumento do parto pré-termo, RCF, RN-LIG e maior tempo de internamento na UCIN.
Diagnóstico diferencial	Patologias com manifestações semelhantes às observadas na PE (ex. HTA crónica, hipertensão gestacional, DRC, trombocitopenia, LES) têm evidenciado perfil angiogénico distinto do observado nos casos de PE, permitindo a sua diferenciação.
Novas estratégias terapêuticas	Desenvolvimento de novos tratamentos baseados no balanço angiogénico (administração de análogos de VEGF e PlGF e aférese para remoção de sFlt1) parecem prolongar o curso da gravidez e diminuir o estado anti-angiogénico. Marcadores angiogénicos poderão servir como meio de monitorização da resposta ao tratamento.
Ensaio clínico	Predição precoce de PE pode facilitar a identificação de gestantes com critérios para inclusão em novos ensaios clínicos. Os biomarcadores angiogénicos também poderão ser úteis na monitorização ao longo do estudo.

DRC, doença renal crónica; HTA, hipertensão arterial; LES, lúpus eritematoso sistémico; PE-pré-eclâmpsia; PlGF-*Placental Growth Factor*; RCF, restrição de crescimento fetal; RN-LIG, recém-nascidos leves para idade gestacional sFlt1, *soluble FMS-like tyrosine kinase 1*; UCIN, Unidade de cuidados intensivos neonatais; VEGF, *Vascular Endothelial Growth Factor*

2.1 Prevenção e Predição de PE

Nos últimos anos têm sido propostos dois principais momentos onde a implementação das ferramentas baseadas nos fatores angiogénicos poderão trazer ganhos importantes na redução da incidência e morbimortalidade associadas à PE. O primeiro envolve o *screening* pelas 11-13 semanas de gestação, cujo objetivo principal passa por uma redução da incidência da doença⁽⁵⁰⁾. A identificação de gestantes de alto risco num período precoce da gravidez permite a implementação de medidas preventivas, como a administração de AAS em baixa dose, que se tem demonstrado eficaz na redução da prevalência da doença⁽¹⁶⁾. A segunda fase envolve o *screening* de PE no 2º e/ou 3º trimestre (T), não com o objetivo de prevenir a doença, mas sim para que o seu

desenvolvimento possa ser previsto precocemente de forma a que as gestantes possam ser acompanhadas de forma mais adequada. Com isto pretende-se uma melhoria dos *outcomes* maternos e fetais bem como um maior planeamento do parto^(50, 51).

2.1.1 1º Trimestre – Identificação de grávidas de alto risco

De acordo com o *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE), o reconhecimento de gestantes de alto risco nas quais as estratégias farmacológicas profiláticas poderão ser benéficas, baseia-se na identificação de fatores de risco que apenas parecem ser capazes de detetar 35% dos casos de PE e 44% dos que vão necessitar de parto < 34 semanas de gestação devido à doença⁽⁵²⁾. Assim, torna-se essencial o desenvolvimento de modelos capazes de predizer com maior rigor o risco de doença em fases precoces da gravidez.

Quer o sFlt1, quer o PlGF, têm mostrado uma baixa especificidade e sensibilidade quando usados como preditores de PE no 1ºT, de forma isolada^(53, 54). Seguindo o sucesso do *screening* de aneuploidias, vários autores têm procurado melhorar o valor preditivo no 1ºT através do desenvolvimento de modelos combinados. Na sua maioria, estes têm em conta vários parâmetros das características maternas, marcadores biofísicos (frequentemente a pressão arterial média (PAM) e fluxometria *doppler* da artéria uterina (DAU)) e marcadores bioquímicos (entre os quais o PlGF)⁽⁵⁵⁾. (Anexo I) Como referido anteriormente, as variações dos níveis séricos do PlGF nas gestantes que irão desenvolver PE são precoces ao passo que, os níveis de sFlt1 poderão manter-se normais até próximo das 20 semanas de gestação, o que poderá justificar os baixos valores preditivos dos modelos que o incluem no 1ºT^(6, 44).

Ainda que os resultados não sejam unânimes, já surgem evidências de que poderá vir a ser possível a predição de PE precocemente, com alguns estudos a alcançar sensibilidades >90%, além de que outros distúrbios relacionados com a disfunção placentar parecem, também, beneficiar do *screening* de 1ºT⁽¹⁵⁾. Poon et al foram dos primeiros investigadores a tentar desenvolver um modelo preditivo em gestantes de baixo risco⁽⁵⁶⁾. O modelo contou com o doseamento de PlGF, *pregnancy-associated plasma protein-A* (PAPP-A), PAM e DAU, avaliados às 11-13 semanas de gestação. Estimaram que, com o uso deste algoritmo, poderiam ser detetados 93.1% dos casos de PE precoce e 35.7% de PE tardia⁽⁵⁶⁾. Resultados muito semelhantes foram também obtidos por outros investigadores⁽⁵⁷⁾. Recentemente alguns modelos combinados utilizando o PlGF foram

capazes de registar sensibilidades > 95%, no entanto, outros não foram capazes de ir além dos 45%^(44, 58-60). O que parece mais consistente é a maior capacidade preditiva dos modelos nos casos de PE precoce em comparação com os tardios^(54, 56, 57).

A *Fetal Medicine Foundation* dispõe já de um calculador de risco de PE *online* que conta com fatores maternos, biofísicos (PAM, DAU) e bioquímicos, entre os quais o PlGF, sFlt1 e PAPP-A. (disponível em <https://fetalmedicine.org/calculator/preeclampsia>) Encontra-se em fase de desenvolvimento o estudo ASPRE que pretende, através de um modelo combinado, identificar as gestantes em risco de vir a desenvolver PE encaminhando-as para a administração de AAS. Se esta abordagem comprovar uma diminuição da incidência de PE, este modelo poderá ser um grande passo na predição precoce desta patologia⁽⁶⁾.

2.1.2 2º/3º Trimestre – Abordagem na suspeita PE e *screening* de grávidas de alto risco

Uma grande parte da evidência tem-se centrado na utilidade do PlGF e do rácio sFlt1/PlGF no 2ºT e 3ºT da gestação, com resultados promissores quanto à sua capacidade preditiva, em particular dos casos de PE precoce^(43, 61, 62). O doseamento dos fatores angiogénicos nesta fase da gestação poderá ter interesse em dois pontos principais. Por um lado, na abordagem de gestantes com sinais e sintomas que levam à suspeita de PE, e por outro, como *screening* em grávidas assintomáticas, mas nas quais uma avaliação prévia as considerou de alto risco para o desenvolvimento da doença. Em ambos os casos, o doseamento dos biomarcadores angiogénicos tem-se mostrado uma ferramenta de grande interesse^(63, 64). No anexo II encontram-se resumidos alguns dos estudos que avaliaram o desempenho dos biomarcadores angiogénicos enquanto preditores de PE no 2º e 3ºT.

O doseamento do rácio sFlt1/PlGF no 2º e 3ºT tem evidenciado, na maioria dos estudos, uma melhor capacidade preditiva de PE do que cada marcador *per se*^(26, 43). Ainda assim, o doseamento isolado do PlGF também se tem mostrado de grande utilidade^(65, 66). Da mesma forma, quer o rácio, quer os biomarcadores angiogénicos isoladamente, apresentam uma melhor capacidade preditiva de PE precoce em comparação com os casos tardios^(26, 43, 61). Com o avanço da gestação, os níveis séricos do rácio nos casos de PE tendem a aproximar-se dos registados em gestações não complicadas, prejudicando o seu

valor como preditor de PE tardia⁽¹⁵⁾. (Figura 5) Um rácio positivo parece aumentar em mais de 30% a probabilidade de desenvolvimento da doença⁽⁶⁷⁾.

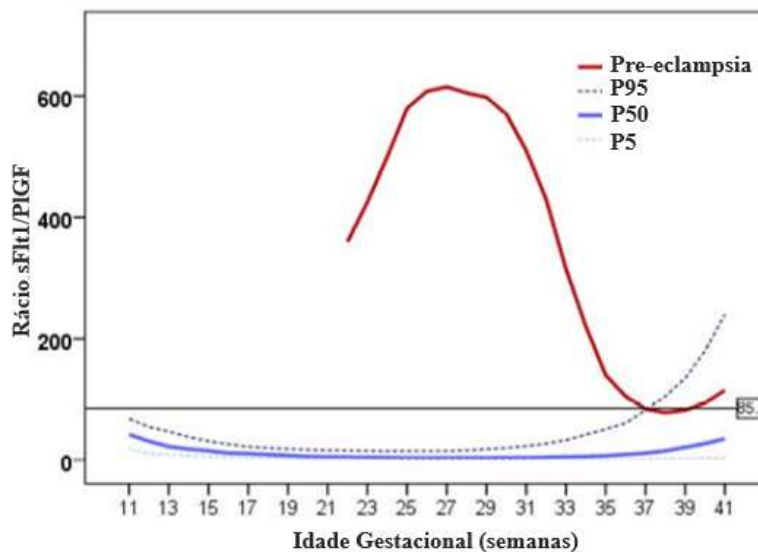


Figura 5 – Concentração materna sérica do rácio sFlt1/PlGF ao longo da gestação. (Adaptado de Herraiz et al., 2015)

Os valores de referência encontram-se representados a azul (percentil 5/50/95) e os valores médios do rácio sFlt1/PlGF, no momento do diagnóstico, a vermelho. As diferenças mais significativas entre os casos de PE e as gestações não complicadas ocorrem nas fases mais iniciais, em particular pelas 24-28 semanas. À medida que a gestação caminha em direção ao parto, verifica-se uma menor variação e maior tendência à sobreposição de valores. O *cut-off* de 85 encontra-se representado pela linha horizontal preta.

A validação de *kits* comerciais para uso corrente na prática clínica, pela sua fácil aplicabilidade em contexto de urgência e rapidez na obtenção de resultados (entre 15-30 minutos), permitiu um aumento crescente das evidências nos últimos anos, com base em amostras maiores e mais equilibradas^(28, 68). Atualmente existem quatro *kits* laboratoriais principais, dois deles apenas para doseamento do PlGF (*Triage PlGF*® da *Alere International* e *DELFIA Xpress PlGF 1-2-3*® da *Perkin Elmer*) e outros dois para doseamento do rácio sFlt1/PlGF (*Elecsys*® da *Roche Diagnostics* e *BRAHMS Kryptor*® da *Thermo Fisher Scientific*)⁽⁶⁸⁾.

Em 2010, Verlohren et al publicaram o primeiro estudo para a validação do *kit* comercial *Elecsys*® que mostrou um elevado poder preditivo de PE (área sob a curva (AUC) de 0.95)⁽⁴³⁾. Além disso, este grupo propôs um *cut-off* de 85, sendo que valores inferiores a este permitiriam excluir o diagnóstico de PE precoce com uma sensibilidade de 89% e especificidade de 97%⁽⁴³⁾.

Mais recentemente veio a demonstrar-se que a definição de *cut-offs* diferentes para os casos de PE precoce e tardia pode melhorar o seu potencial preditor, indo de encontro à fisiopatologia distinta destas duas entidades. Desta forma, Álvarez-Fernández et al propuseram um *cut-off* de 23 para os casos de PE precoce (sensibilidade de 92% e especificidade de 81%) e 45 para os casos de PE tardia (sensibilidade de 84% e especificidade de 73%)⁽⁶⁹⁾. Seguindo esta tendência, Verlohren et al reformularam os *cut-offs* usados no *kit Elecsys*[®] definindo dois novos grupos: por um lado os casos de PE precoce cuja abordagem se guia pelos limites ≤ 33 e ≥ 85 , e os casos de PE tardia com limites ≤ 33 e ≥ 110 , para excluir ou considerar o diagnóstico de PE, respetivamente. (Anexo III) O intervalo entre os limites superior e inferior representa um grupo de gestantes nas quais a hipótese de PE não pode ser posta de parte, pelo que a sua abordagem passa também por uma maior vigilância⁽⁷⁰⁾. O estudo PROGNOSIS veio reforçar a utilidade do rácio ao demonstrar que um *cut-off* de 38 é um preditor útil da ausência de PE (valor preditivo negativo (VPN) de 99.3%) a curto prazo (1 semana) em gestantes com sinais clínicos sugestivos da doença⁽⁶⁴⁾. No anexo IV estão resumidas algumas das propostas de *cut-offs* que têm sido apresentadas, bem como o seu desempenho na predição da doença.

Tal como referido anteriormente, o doseamento isolado de PlGF também se tem mostrado um importante preditor^(25, 43). Em gestantes que se apresentam com suspeita de PE < 35 semanas, um doseamento < percentil 5 demonstrou elevada sensibilidade (96%) e VPN (98%) para o desenvolvimento de PE nos 14 dias subsequentes⁽⁶⁵⁾. Também aqui os resultados foram melhores nos casos de PE precoce^(61, 66). Alguns estudos já compararam a performance dos *kits* laboratoriais que avaliam o rácio (*Elecsys*[®]) e o PlGF (*Triage*[®]) registando-se diferenças pouco significativas, pelo que na prática clínica, a utilização de ambos se encontra recomendada^(61, 66, 71). Apesar de alguns estudos já terem evidenciado que o *BRAHMS*[®] apresenta um desempenho equivalente ao *Elecsys*[®], o mesmo ainda não é recomendado pelo NICE por falta de evidências⁽⁷¹⁻⁷³⁾.

Ao contrário do que ocorre com o sFlt1, o PlGF é uma proteína de baixo peso molecular o que permite uma ampla filtração glomerular, tendo o seu doseamento a nível urinário sido proposto como possível teste de *screening* de PE⁽²¹⁾. À semelhança do que se verifica com os níveis séricos, alguns estudos têm evidenciado valores urinários de PlGF diminuídos em gestantes com PE, em particular nos casos precoces e/ou mais severos^(47, 74). Além disso, parece existir uma correlação positiva entre os níveis séricos e

urinários de PlGF, favorecendo a sua utilização⁽⁴⁷⁾. Uma possível estratégia futura poderá ter por base a determinação do rácio sérico nos casos em que o PlGF urinário se encontre diminuído⁽²¹⁾. No entanto, atualmente continuam a ser necessárias novas evidências que justifiquem o seu uso.

Apesar dos resultados obtidos pela introdução do rácio, é essencial ter em conta que o mesmo apenas se encontra validado como ferramenta auxiliar na abordagem dos casos de PE, não substituindo as técnicas de avaliação clínica atuais^(15, 71). Recentemente, o NICE veio recomendar a utilização dos testes baseados no doseamento do PlGF (*Triage*[®] e *Elecsys*[®]) em grávidas que se apresentam com suspeita de PE entre as 20-34⁺⁶ semanas de gestação⁽⁷¹⁾. Tendo por base uma metanálise levada a cabo pelo *National Health Service* (NHS), concluíram que um teste negativo neste contexto ($\text{PlGF} \geq 100\text{pg/ml}$ ou rácio $\text{sFlt1/PlGF} < 38$) fornece confiança suficiente para que a doença seja excluída e as gestantes possam ser encaminhadas para o seguimento habitual⁽⁶⁸⁾. Desta forma, poder-se-á reduzir a ansiedade provocada, bem como monitorizações e internamentos desnecessários^(68, 71). No que diz respeito aos testes positivos, é recomendada uma interpretação mais cautelosa, não devendo o diagnóstico de PE ser totalmente assumido e muito menos ser indicador da decisão de parto, a qual deve continuar a ter por base critérios de gravidade clínica⁽⁷¹⁾.

Alguns autores têm demonstrado que a adição do rácio sFlt1/PlGF ao DAU melhora a capacidade preditiva de ambos^(63, 75, 76). Um modelo combinado que incluiu PAM, DAU, PlGF e sFlt1 mostrou-se capaz de prever 98% dos casos de PE pré-termo⁽⁵⁰⁾. Recentemente, o estudo multicêntrico STEPS mostrou que a adição do rácio sFlt1/PlGF ao protocolo clínico habitual de avaliação de gestantes de alto risco (que inclui PAM, DAU e história materna) melhora a predição de PE precoce⁽⁶³⁾.

2.2 Estratificação de gravidade e predição de *outcomes* adversos

Além da capacidade preditora de PE, o doseamento dos fatores angiogénicos também tem mostrado resultados promissores quanto à sua capacidade de antever o desenvolvimento de *outcomes* maternos e fetais adversos⁽⁷⁷⁾. Um melhor planeamento dos cuidados prestados e do momento do parto bem como uma possível estratificação de gravidade dos casos identificados são uma das principais vantagens que têm despertado o interesse de vários investigadores.

Além de um doseamento elevado do rácio ser preditivo de PE, a grandeza deste aumento parece relacionar-se com a gravidade da doença^(47, 75). Segundo Baltajian et al., gestantes com PE que desenvolvem *outcomes* adversos apresentam sFlt1 e rácio mais elevados à admissão, em comparação com aquelas que desenvolvem PE sem outras intercorrências⁽⁷⁸⁾. Além disso, os dados mostram que doentes sem outros *outcomes* adversos mantêm um perfil estável e mais baixo, o que poderá permitir uma abordagem expectante dos casos de PE pré-termo⁽⁷⁸⁾. A utilização de um *cut-off* de 38 mostrou um VPN de 99.97% para a necessidade de parto por PE em uma semana, pelo que, um teste negativo, poderá favorecer uma atitude expectante nestes casos⁽⁷⁹⁾. Por outro lado, o tempo entre a determinação do PlGF e o parto parece variar de acordo com a grandeza de diminuição deste fator, tornando o seu doseamento isolado uma outra ferramenta de interesse na estratificação de gravidade destas gestantes (Figura 6)⁽⁶⁵⁾.

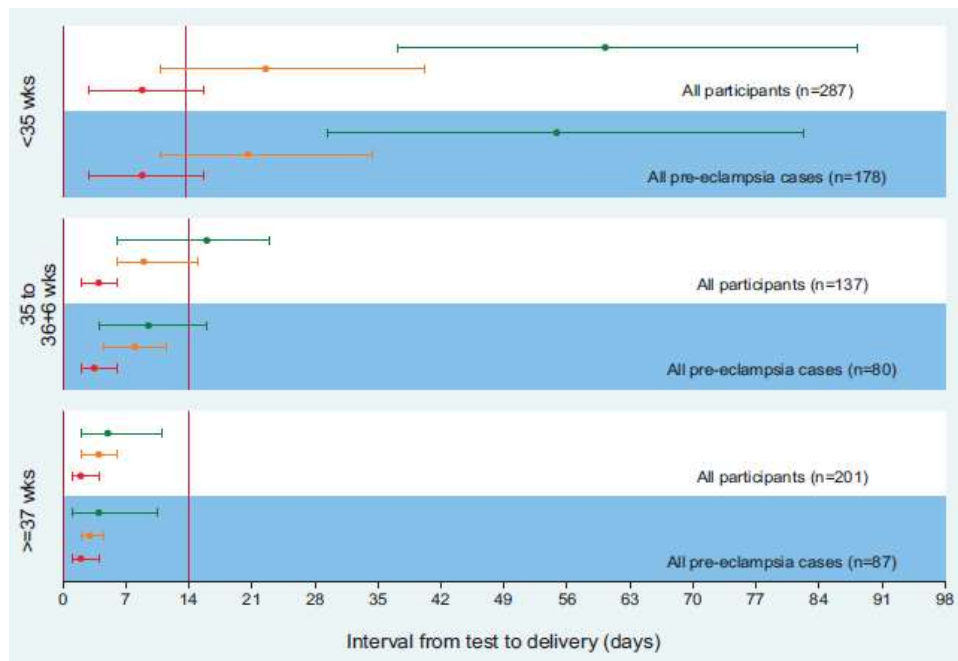


Figura 6 – Relação entre os níveis séricos de PlGF e o intervalo até ao parto. (Adaptado de Chappell et al., 2013)

A linha vermelha horizontal representa concentrações de PlGF muito baixo (<12pg/ml); a laranja PlGF baixo (< percentil 5) e a verde PlGF normal (≥ percentil 5).

No que diz respeito ao desenvolvimento de *outcomes* adversos, vários autores têm associado o desequilíbrio angiogénico a um aumento da incidência de parto pré-termo RCF e recém-nascidos leves para a idade gestacional (RN-LIG)^(25, 47, 76, 80). Também o doseamento isolado de PlGF parece ter interesse crescente, mostrando-se capaz de prever com elevada sensibilidade os casos de RN-LIG, bem como aqueles que irão

necessitar de parto nos 14 dias após doseamento⁽⁶⁵⁾. O tempo médio desde a admissão até ao parto parece correlacionar-se de forma inversa com os níveis séricos do rácio, da mesma forma que o aumento dos níveis de sFlt1 está inversamente relacionado com a idade gestacional a que o parto se torna necessário (Figura 7) ^(51, 69, 78, 79).

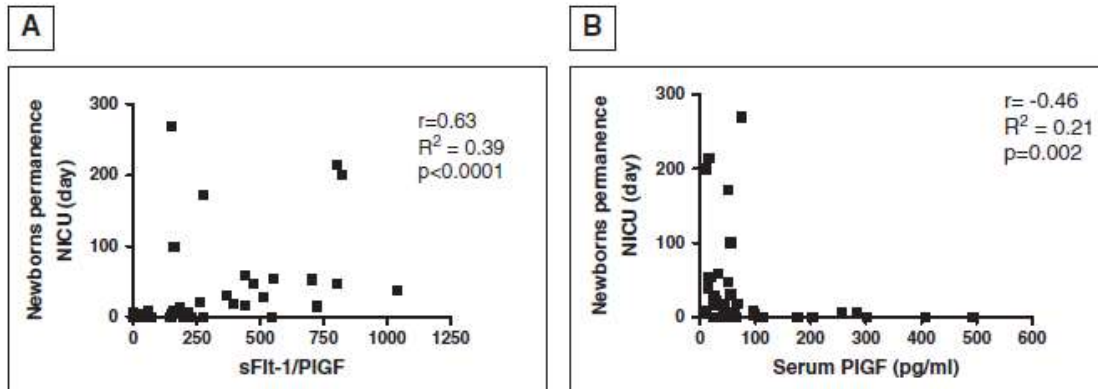


Figura 7 – Relação entre os níveis séricos dos biomarcadores angiogénicos e o tempo de permanência na unidade de cuidados intensivos neonatais (UCIN). (Adaptado de Pinheiro et al., 2014)

Níveis mais elevados de rácio sFlt1/PlGF estão associados a maior número de dias de permanência na UCIN (painel A) ao passo que as concentrações séricas de PlGF se relacionam de forma inversa com o número de dias na UCIN (painel B).

Um rácio ≥ 85 , à admissão, mostrou um valor preditivo positivo (VPP) de 91% para a necessidade de parto em 2 semanas enquanto um rácio ≤ 38 foi preditor da ausência de *outcomes* fetais adversos em 1 semana com VPN de 99.3%^(64, 78). Rana et al obtiveram resultados semelhantes, concluindo que um rácio ≥ 85 é um bom preditor do desenvolvimento de *outcomes* adversos no prazo de 2 semanas, em grávidas que se apresentam com suspeita de PE < 34 semanas de gestação⁽⁷⁷⁾. Também a duração do internamento e da permanência em unidades de cuidados intensivos neonatais (UCIN) parece variar de forma direta com os valores do rácio e do sFlt1, e de forma inversa com os níveis séricos de PlGF (Figura 7)⁽⁴⁷⁾. O doseamento de PlGF parece acrescentar informação à fluxometria *doppler* umbilical <35 semanas na identificação de fetos em risco de *outcomes* adversos severos e necessidade urgente de parto⁽⁸¹⁾.

Recentemente, Saleh et al mostraram que um rácio > 85 aumenta em 30 vezes o risco de *outcomes* adversos⁽⁸²⁾. Este foi o primeiro estudo a comparar a capacidade preditiva de *outcomes* adversos apenas pelo diagnóstico clínico e com a inclusão de um resultado positivo do teste, mostrando que este último acresce poder preditivo ao diagnóstico clínico. Da mesma forma, um teste negativo, mesmo na presença de PE

clínica, poderá vir a ser um bom indicador de uma gestação pouco complicada, associando-se a prolongamento da gravidez e possibilidade de uma atitude expectante⁽⁸²⁾.

2.3 Diagnóstico diferencial

Tal como já foi referido anteriormente, o diagnóstico de PE assenta em achados clínicos e laboratoriais que carecem de especificidade para esta patologia. A proteinúria e a hipertensão, assim como outros indicadores de disfunção orgânica podem ser encontrados, quer isoladamente, quer em associação, numa vasta lista de patologias que também podem ocorrer durante a gestação⁽⁸³⁾. Nestes casos, a confirmação do diagnóstico de PE constitui um desafio, exigindo muitas vezes a necessidade de hospitalização e realização de estudos extensos, aos quais se associam uma grande mobilização de recursos e gastos⁽⁸⁴⁾. O reconhecimento de que os fatores angiogénicos estão envolvidos na fisiopatologia da PE tem despertado o interesse quanto ao seu uso no diagnóstico diferencial com patologias que a mimetizam, como a hipertensão crónica, hipertensão gestacional, trombocitopenia e nefrite lúpica⁽²⁰⁾.

A hipertensão é um achado frequente ao longo das gestações, e com o aumento da idade materna que se tem registado nos últimos anos, esta entidade tem-se tornado um grande desafio⁽⁸³⁾. A abordagem destas situações é muito variável e um falso diagnóstico poderá ter implicações importantes⁽²⁵⁾. A capacidade dos fatores angiogénicos diferenciarem as situações de hipertensão gestacional ou crónica dos casos de PE sobreposta tem sido alvo de grandes investigações com resultados promissores⁽⁸⁵⁾. Tem-se mostrado que os níveis séricos de sFlt1 e PlGF nas gestantes com hipertensão crónica não diferem de forma significativa dos doseados em grávidas normotensas^(25, 63, 86). Da mesma forma, o rácio sFlt1/PlGF não parece ser afetado por hipertensão pré-existente, pelo que se mantém como um indicador útil na identificação dos casos de PE sobreposta⁽²⁵⁾. Num estudo realizado por Salahuddin et al, o sFlt1 foi capaz de diferenciar os casos de PE sobreposta dos que apenas apresentam hipertensão gestacional com uma sensibilidade e especificidade de 79% e 88%, respetivamente. No diagnóstico diferencial com os casos da hipertensão crónica verificou-se uma sensibilidade de 84% e especificidade de 95%⁽⁸⁷⁾.

Quer a DRC, quer a PE, podem apresentar agravamento progressivo da hipertensão e proteinúria durante a gestação. Alguns estudos têm demonstrado que na DRC o perfil angiogénico é semelhante ao observado nas gestações normais, ao passo

que este se encontra alterado nos casos de PE⁽⁹⁾. Ainda que nalguns estudos se tenha registado um desequilíbrio no perfil angiogénico nos casos de DRC, as alterações nos níveis séricos de sFlt1 e PlGF são mais pronunciadas nos casos em que a PE e DRC co-existem, mantendo a utilidade destes biomarcadores neste contexto⁽⁸⁸⁾.

Também nos casos de nefropatia associada ao Lúpus Eritematoso Sistémico (LES) e a síndrome antifosfolipídico (SAF) se têm registado resultados promissores. Um perfil angiogénico oposto ao normalmente visto nos casos de PE, com elevação dos níveis séricos de PlGF e VEGF tem sido documentado em casos de SAF. Ainda que os níveis de sFlt1 também possam estar aumentados nestas situações, a discrepância em relação à normalidade é muito inferior à registada nos casos de PE⁽⁸⁹⁾. Por outro lado, as disfunções orgânicas provocadas pelo LES, em especial a nefrite lúpica, podem ser difíceis de distinguir de PE. Qazi et al demonstraram que as concentrações séricas de sFlt1 são consideravelmente maiores nos casos de LES com PE sobreposta em comparação com as gestantes apenas com LES ou exacerbações da doença⁽⁹⁰⁾. Verdonk et al utilizaram o rácio sFlt1/PlGF para diferenciar os casos de PE, exacerbação de nefrite lúpica e sobreposição de ambas, reforçando o possível valor destes biomarcadores no diagnóstico diferencial, bem como na diminuição da necessidade de biópsia renal⁽⁹¹⁾.

Young et al demonstraram que os marcadores angiogénicos são capazes de distinguir os casos de trombocitopenia relacionada com síndrome de HELLP daqueles em que esta aparece de forma isolada ou no contexto de outras entidades clínicas⁽⁸⁴⁾. Estes investigadores concluíram que o perfil angiogénico nos casos de trombocitopenia não relacionada ao HELLP é semelhante ao observado nas gestações sem intercorrências⁽⁸⁴⁾.

2.4 Desenvolvimento de estratégias terapêuticas

Atualmente não existem estratégias terapêuticas específicas para a PE, estando a sua abordagem assente no controlo da hipertensão materna, prevenção de convulsões e planeamento do parto⁽⁹²⁾. O crescente conhecimento acerca da fisiopatologia da PE, em particular dos mecanismos que envolvem os fatores angiogénicos, traz a possibilidade de reconhecimento de vias e moléculas que possam servir de base ao desenvolvimento de novos tratamentos.

O restabelecimento do balanço angiogénico, que nos casos de PE se encontra alterado, é uma das estratégias que tem merecido maior atenção. A administração de PlGF

e VEGF através de estratégias recombinantes tem-se mostrado promissora. A administração de VEGF mostrou-se capaz de melhorar os sintomas induzidos pelo excesso de sFlt1, sem danos maternos ou fetais aparentes^(34, 35). Da mesma forma, o PlGF parece melhorar o perfil vasodilatador e reduzir o stress oxidativo, contrabalançando os efeitos do sFlt1^(37, 38). Além disso, estudos têm mostrado que este fator angiogénico é capaz de promover o crescimento e desenvolvimento fetal, prolongando a gravidez⁽³⁷⁾. Uma outra vantagem do PlGF reside no facto de circular sob a forma de dímeros, cujo peso molecular se encontra significativamente acima do limiar de tamanho capaz de ultrapassar a barreira placentar, minimizando os efeitos fetais⁽³⁸⁾. Assim, a utilização de VEGF ou outras moléculas que mimetizem a sua ação, como o PlGF, poderão ser uma esperança para o tratamento da PE, ou mesmo de outras doenças com base fisiopatológica semelhante⁽²⁴⁾.

Uma outra abordagem sob investigação passa pela remoção do sFlt1 em circulação por técnicas de aférese com sulfato de dextrano⁽⁹³⁾. Um estudo piloto demonstrou que este procedimento é capaz de diminuir os níveis circulantes de sFlt1, conduzindo a uma melhoria da proteinúria e estabilização da pressão arterial, sem efeitos adversos aparentes para a mãe nem para o feto. Além disso, estes investigadores foram capazes de prolongar gestações com PE precoce em pelo menos 15 dias, com evidência de crescimento fetal normal⁽⁹³⁾. No entanto, desconhece-se a real segurança deste procedimento bem como a frequência e condições em que deve ser realizado.

Um dos grandes benefícios da capacidade preditiva dos fatores angiogénicos reside na possibilidade de identificar precocemente gestantes em elevado risco de virem a desenvolver PE de forma a poderem ser incluídas em ensaios clínicos terapêuticos. Por outro lado, a avaliação progressiva do perfil angiogénico poderá servir como um marcador fiável da resposta ao tratamento, monitorização de doses e dos *outcomes* adversos que lhe podem vir a estar associados⁽¹⁴⁾.

Alguns estudos têm sugerido que as estatinas podem ser uma importante classe farmacológica no contexto da PE, pela sua aparente capacidade de diminuir a produção de sFlt1⁽⁹⁴⁾. Por outro lado, a hormona relaxina parece suprarregular a produção de fatores pro-angiogénicos⁽⁹⁾. A nicotina também tem sido associada a melhoria da função endotelial e antagonismo da ação do sFlt1, uma explicação possível para a menor incidência de PE entre fumadoras⁽⁷⁾. A utilização de anticorpos que neutralizem as moléculas anti-angiogénicas poderá ser também uma solução no tratamento da PE⁽³⁴⁾.

3. Impacto na decisão clínica

Em 2016 foram publicados os resultados do PreOs (*The Preeclampsia Open Study*), o primeiro estudo prospetivo a avaliar a influência do resultado do rácio sFlt1/PlGF na tomada de decisão clínica em grávidas com suspeita de PE, em particular quanto à necessidade de internamento. Para o desenho deste estudo contaram com uma ferramenta informática onde os clínicos registaram a sua decisão antes e após conhecimento do resultado do rácio⁽⁹⁵⁾. A introdução do rácio motivou alteração da decisão de internamento em 16.9% dos casos, sendo que 11% das grávidas inicialmente propostas a internamento foram reencaminhadas para o domicílio, ao passo que 5.9% foram propostas para internamento (Figura 8)⁽⁹⁶⁾. Verificou-se uma maior proporção de mulheres que vieram a desenvolver PE no grupo em que a introdução do rácio motivou a necessidade de internamento. Além disso, o rácio levou a uma mudança de decisão numa pequena percentagem dos casos quanto à indução do parto e à necessidade de iniciar corticoterapia, registando-se uma maior percentagem de PE no grupo em que se optou por induzir a maturação pulmonar fetal após conhecimento do rácio.

À semelhança do que tem sido evidenciado noutros estudos, também aqui se mostrou que o risco de *outcomes* materno-fetais adversos se correlaciona com o aumento do rácio sFlt1/PlGF, em particular para valores > 85. Apenas 1 em cada 5 grávidas com suspeita de PE vieram efetivamente a desenvolver a doença, o que poderá levar a pensar que normalmente existe uma tendência a sobrediagnóstico e consequente sobretratamento⁽⁹⁶⁾.

4. Impacto económico

A complexidade da PE e os recursos médicos necessários ao acompanhamento das gestantes, torna estes cenários importantes consumidores de recursos, quer humanos, quer económicos. Assim, além da importância preditiva e diagnóstica, é essencial que antes da introdução de novos instrumentos clínicos, os mesmos se mostrem custo-efetivos. No que diz respeito a este pressuposto, os estudos ainda são escassos.

Em 2013, Schnettler et al. publicaram um estudo retrospectivo levado a cabo em Boston, no qual avaliaram a diferença a nível económico entre a abordagem diagnóstica tradicional (combinação de pressão arterial, proteinúria, alanina-aminotransferase (ALT) e contagem de plaquetas) e o uso do rácio sFlt1/PlGF em grávidas com suspeita de PE que se apresentaram < 34 semanas de gestação. Da análise pode concluir-se que à custa

da maior especificidade do rácio sFlt1/PlGF, uma menor percentagem de grávidas foi diagnosticada erradamente com PE, pelo que a menor necessidade de internamento e de partos pré-termo levou a uma diminuição nos custos em cerca de 1215 dólares por doente⁽⁹⁷⁾.

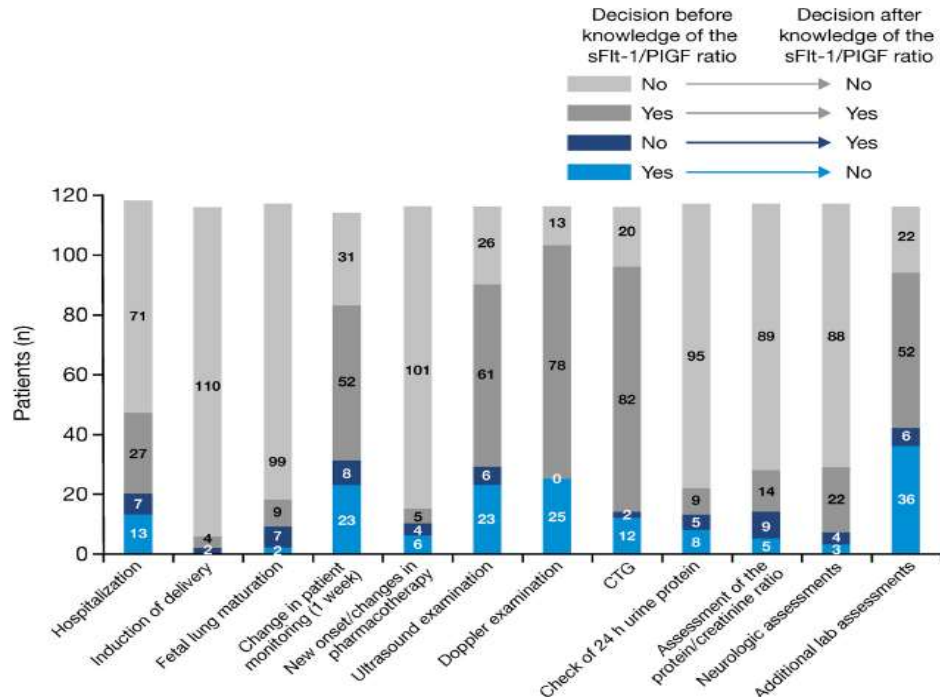


Figura 8 – Impacto do rácio sFlt1/PlGF na decisão clínica. (*Adaptado de Klein et al., 2016*)
Todas as mudanças foram consideradas apropriadas por um grupo de avaliadores independentes. Os resultados estão representados em número absoluto, contando no total com uma população de 118 gestantes.

Num outro estudo, Vatish et al. chegaram a conclusões semelhantes ao tentaram avaliar o impacto económico da introdução do rácio sFlt1/PlGF na prática clínica do Reino Unido. Tendo por base a elaboração de vários cenários hipotéticos, estimaram que a introdução desta ferramenta auxiliar possa poupar em média 344 libras por doente, ganhos principalmente devidos à diminuição das hospitalizações desnecessárias em gestantes que não vão desenvolver PE⁽²³⁾.

Recentemente, uma análise económica publicada pelo NHS vem, também, incentivar o uso dos testes relacionados com o doseamento do PlGF na prática clínica. A falta de estudos nesta área apenas permitiu a avaliação de dois dos quatro *kits* comerciais principais - *Triage*[®] e o *Elecsys*[®]. Da análise conclui-se que o uso de ambos pode permitir uma redução dos custos se adicionados à abordagem clínica de rotina da PE. A magnitude desta redução não se mostrou clara, no entanto, esta parece ser maior quando os testes são aplicados em mulheres com suspeita de PE na gravidez precoce (20-35 semanas) ao passo que, nos casos tardios (35-37 semanas), o benefício é menor⁽⁶⁸⁾. A avaliação económica

parece beneficiar ligeiramente o uso do *Triage*[®] em ambos os períodos gestacionais. Nesta análise foi ainda avaliado o custo-efetividade da substituição do teste de determinação de proteinúria pelo rácio sFlt1/PlGF, registando-se uma diminuição pouco significativa dos gastos com a segunda abordagem⁽⁶⁸⁾.

À semelhança do que já tem vindo a ser referido noutras secções desta revisão, os estudos existentes denotam uma grande heterogeneidade na escolha de amostras e nas variáveis avaliadas, o que dificulta a aplicação de ferramentas comparativas⁽⁶⁸⁾. Além disso, nenhum deles avaliou de forma concisa o impacto nos *outcomes* maternos e neonatais, nem os restantes benefícios em termos de saúde, pelo que são necessárias mais evidências neste campo.

Tendo por base estas conclusões, em maio de 2016 o NICE publicou no seu guia de recomendações uma nota acerca do impacto económico da utilização destes testes na prática clínica⁽⁷¹⁾. De acordo com esta entidade, o uso de ferramentas que têm por base o doseamento do PlGF (isoladamente ou pelo rácio) podem ter benefício clínico em comparação com a abordagem *standard*, pelo menos a curto prazo, deixando ao cuidado dos hospitais a decisão quanto à sua implementação, ou não, nos seus protocolos. É evidente que os ganhos a nível económico são essencialmente devidos ao elevado VPN dos testes com doseamento de PlGF quando usados para excluir PE em grávidas sob suspeita. Os custos associados a estes testes não impedem que os mesmos sejam repetidos ao longo da avaliação da mesma grávida, no entanto, desconhece-se o impacto que isso possa vir a ter nos *outcomes* materno-fetais⁽⁷¹⁾.

5. Limitações e situações especiais

Apesar dos bons resultados que têm sido publicados quanto ao uso dos fatores angiogénicos no contexto de PE, as metodologias são muito variáveis, dificultando a realização de estudos comparativos^(67, 68). Além disso, a vasta maioria das publicações foi feita tendo por base grupos de gestantes nulíparas, agrupadas independentemente das suas co-morbilidades e com exclusão de casos de patologia fetal (ex. aneuploidias). Assim, a validade destes resultados noutros contextos torna-se limitada.

Estudos têm mostrado que nos casos de gestação gemelar não complicada por PE, os níveis séricos de fatores angiogénicos diferem de forma significativa dos casos de gestações de feto único pelo que os intervalos de normalidade, bem como os *cut-offs* de

predição da doença, precisam de ser redefinidos neste contexto⁽⁴⁰⁾. O mesmo se verifica nos casos de gestantes diabéticas, múltiparas e com história prévia de PE, nas quais quer o sFlt1, quer o rácio, se têm mostrado aumentados, independentemente do desenvolvimento de PE^(39, 98).

Permanece, também, por definir qual a importância do doseamento dos fatores angiogénicos no pós-parto de gestantes que desenvolveram a patologia, bem como o momento no qual devem ser determinados.

Além da escassez de normas orientadoras quanto ao uso dos fatores angiogénicos na prática clínica, a necessidade de medições subsequentes, o intervalo a que as mesmas devem ser feitas e de que forma podem influenciar os *outcomes* maternos e fetais também carecem de padronização. Evidências de que a tendência e rapidez de variação destes fatores poderão ser mais informativas do que um valor isolado traz implicações importantes a nível da abordagem destes casos e do impacto económico que isso possa trazer⁽²⁶⁾.

No que diz respeito ao *screening* do 1ºT, e apesar dos resultados serem promissores, o uso clínico destes modelos ainda não é recomendado pela falta de evidências de que os *outcomes* maternos e fetais podem ser melhorados com a implementação destas estratégias. Além disso, grande parte dos modelos utilizam dados da avaliação da artéria uterina, cuja abordagem não se encontra disponível em todos os centros, em particular em países menos desenvolvidos, nem foi ainda avaliado o impacto económico destas estratégias⁽⁶⁾.

Da mesma forma, a grande variabilidade de idades gestacionais a que os estudos foram elaborados não permitiu, ainda, definir um período ótimo para a aplicação do doseamento dos fatores angiogénicos enquanto ferramenta de *screening* no 2º e 3º trimestres. Alguns autores propõem o período entre as 24-26 semanas de gestação uma vez que por esta altura a invasão trofoblástica já se encontra completa e vários estudos mostram uma boa capacidade preditiva dos fatores angiogénicos nesta fase⁽¹⁵⁾. Quanto à utilização como ferramenta auxiliar nos casos de suspeita de PE, os testes existentes encontram-se validados após as 20 semanas de gestação, com resultados menos consistentes a partir das 35 semanas^(68, 71).

Nos últimos anos tem-se proposto que os fatores angiogénicos também poderão ter um papel importante em outras patologias com base placentar (ex. RCF, *outcomes*

adversos independentes da PE, aborto), pelo que o seu doseamento poderá vir a constituir uma importante ferramenta nesses contextos⁽⁹⁹⁾. No entanto, as evidências ainda não são suficientes para que o seu uso por rotina possa ser recomendado.

6. Algoritmo de abordagem

Tendo por base as melhores evidências e recomendações atualmente existentes, desenvolvemos uma proposta de algoritmo para abordagem de gestantes que se apresentam no serviço de urgência com critérios clínicos de suspeita de PE⁽⁷¹⁾. A figura 9 resume de forma esquemática e simples de que forma o doseamento do PlGF ou do rácio sFlt1/PlGF poderá direcionar a decisão clínica.

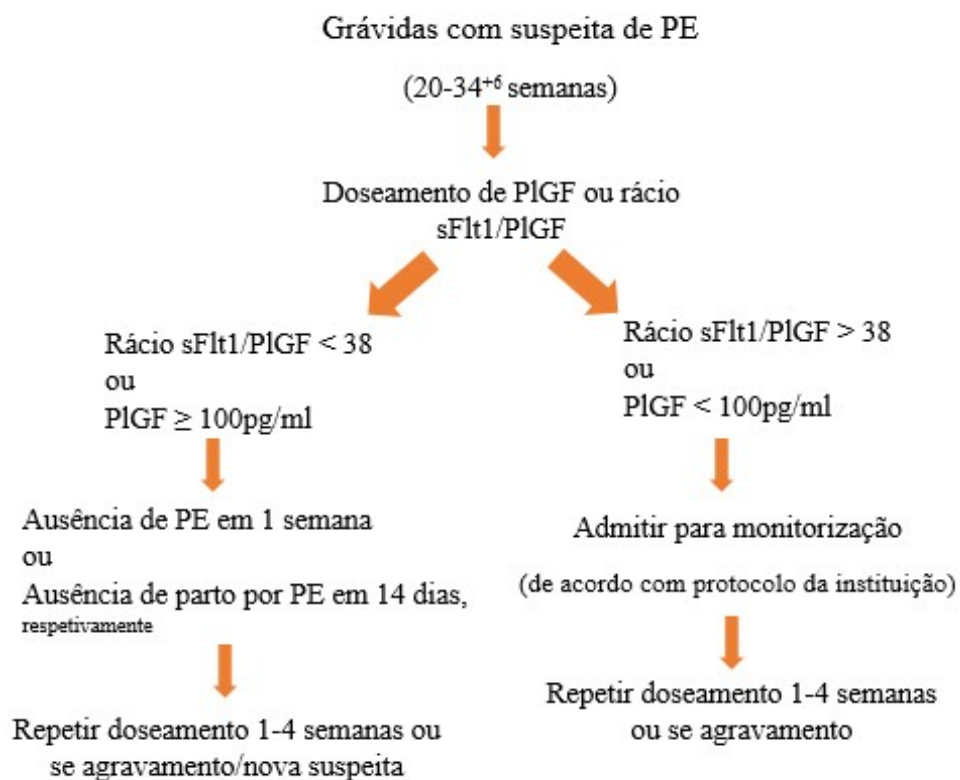


Figura 9 – Proposta de algoritmo.

Proposta de abordagem de gestantes que se apresentam com suspeita de PE 20-34⁺⁶ semanas de gestação.

IV. Conclusões e Perspetivas Futuras

Apesar dos grandes avanços que se têm observado em muitos campos da saúde, a PE continua a representar uma importante causa de morbimortalidade materna e fetal, que requer soluções preditivas e terapêuticas. O redirecionamento das investigações para os mecanismos fisiopatológicos que lhe servem de base trouxe descobertas essenciais, em especial pela identificação dos fatores angiogénicos sFlt1, PlGF e VEGF. Ao longo dos últimos anos tem-se assistido a um aumento significativo das publicações em torno das possíveis aplicações destes biomarcadores no contexto de PE, em particular pelo seu papel preditivo potencial.

Atualmente, as evidências existentes parecem ser já suficientes para assegurar a utilização do PlGF e do rácio sFlt1/PlGF na abordagem de grávidas com suspeita de PE no 2 e 3ºT de gestação, em particular, para a exclusão da doença no contexto de um resultado negativo. Ainda assim, continuam a ser necessários estudos que venham reforçar o ganho em termos de *outcomes* maternos e fetais que a introdução destas ferramentas implica, bem como uma melhor definição dos casos em que devem ser utilizadas e com que frequência. Por outro lado, é importante que no futuro haja uma maior preocupação quanto à uniformização dos desenhos de estudos, em particular no que respeita às técnicas de amostragem, de forma a que as conclusões possam ser mais facilmente comparáveis. Além disso, a atual ausência de normas europeias publicadas pelos principais órgãos ligados à saúde materna e fetal continua a ser um entrave à ampla utilização dos marcadores angiogénicos na prática clínica.

À parte o seu poder preditivo, a utilização do balanço angiogénico também tem mostrado resultados promissores noutras vertentes, nomeadamente na estratificação de gravidade, predição de *outcomes* adversos, diagnóstico diferencial e como base para desenvolvimento de estratégias terapêuticas. No entanto, as evidências atuais ainda não são suficientes para a sua aplicação nestes contextos, pelo que estudos futuros devem procurar melhores respostas a este nível. Da mesma forma, a utilização dos marcadores angiogénicos como teste de *screening* de 1ºT deverá ser uma prioridade nas investigações futuras, uma vez que mais importante que a predição/diagnóstico da doença, é a sua prevenção.

V. Referências

1. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2013;122(5):1122-31.
2. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2011;25(4):391-403.
3. Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller A-B, Daniels J, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *The Lancet Global Health*. 2(6):e323-e33.
4. Pova AM, Costa F, Rodrigues T, Patricio B, Cardoso F. Prevalence of hypertension during pregnancy in Portugal. *Hypertension in pregnancy*. 2008;27(3):279-84.
5. Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nature reviews Nephrology*. 2014;10(8):466-80.
6. Anderson UD, Gram M, Akerstrom B, Hansson SR. First trimester prediction of preeclampsia. *Current hypertension reports*. 2015;17(9):584.
7. Jardim LL, Rios DR, Perucci LO, de Sousa LP, Gomes KB, Dusse LM. Is the imbalance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors associated with preeclampsia? *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2015;447:34-8.
8. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Seminars in perinatology*. 2009;33(3):130-7.
9. Goel A, Rana S. Angiogenic factors in preeclampsia: potential for diagnosis and treatment. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2013;22(6):643-50.
10. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed)*. 2007;335(7627):974.
11. Roberts JM, Bell MJ. If we know so much about preeclampsia, why haven't we cured the disease? *Journal of reproductive immunology*. 2013;99(1-2):1-9.
12. Lapaire O, Shennan A, Stepan H. The preeclampsia biomarkers soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor: current knowledge, clinical implications and future application. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010;151(2):122-9.
13. Di Martino D, Cetin I, Frusca T, Ferrazzi E, Fuse F, Gervasi MT, et al. Italian Advisory Board: sFlt-1/PlGF ratio and preeclampsia, state of the art and developments in diagnostic, therapeutic and clinical management. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016;206:70-3.
14. Hagmann H, Thadhani R, Benzing T, Karumanchi SA, Stepan H. The promise of angiogenic markers for the early diagnosis and prediction of preeclampsia. *Clinical chemistry*. 2012;58(5):837-45.
15. Herraiz I, Simon E, Gomez-Arriaga PI, Martinez-Moratalla JM, Garcia-Burguillo A, Jimenez EA, et al. Angiogenesis-Related Biomarkers (sFlt-1/PLGF) in the Prediction and Diagnosis of Placental Dysfunction: An Approach for Clinical Integration. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(8):19009-26.
16. Bujold E, Roberge S, Lacasse Y, Bureau M, Audibert F, Marcoux S, et al. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. *Obstetrics and gynecology*. 2010;116(2 Pt 1):402-14.
17. Foidart JM, Schaaps JP, Chantraine F, Munaut C, Lorquet S. Dysregulation of anti-angiogenic agents (sFlt-1, PLGF, and sEndoglin) in preeclampsia--a step forward but not the definitive answer. *Journal of reproductive immunology*. 2009;82(2):106-11.
18. Shah DA, Khalil RA. Bioactive factors in uteroplacental and systemic circulation link placental ischemia to generalized vascular dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia. *Biochemical pharmacology*. 2015;95(4):211-26.

19. Carty DM, Delles C, Dominiczak AF. Novel Biomarkers for Predicting Preeclampsia. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2008;18(5-24):186-94.
20. Naljayan MV, Karumanchi SA. New developments in the pathogenesis of preeclampsia. *Advances in chronic kidney disease*. 2013;20(3):265-70.
21. Lam C, Lim KH, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2005;46(5):1077-85.
22. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(7):672-83.
23. Vatish M, Strunz-McKendry T, Hund M, Allegranza D, Wolf C, Smare C. sFlt-1/PlGF ratio test for pre-eclampsia: an economic assessment for the UK. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2016;48(6):765-71.
24. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation*. 2011;123(24):2856-69.
25. Sunderji S, Gaziano E, Wothe D, Rogers LC, Sibai B, Karumanchi SA, et al. Automated assays for sVEGF R1 and PlGF as an aid in the diagnosis of preterm preeclampsia: a prospective clinical study. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2010;202(1):40.e1-7.
26. Moore Simas TA, Crawford SL, Solitro MJ, Frost SC, Meyer BA, Maynard SE. Angiogenic factors for the prediction of preeclampsia in high-risk women. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2007;197(3):244.e1-8.
27. Charnock-Jones DS. Placental hypoxia, endoplasmic reticulum stress and maternal endothelial sensitisation by sFLT1 in pre-eclampsia. *Journal of reproductive immunology*. 2016;114:81-5.
28. Verlohren S, Stepan H, Dechend R. Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2012;122(2):43-52.
29. Lecarpentier E, Tsatsaris V. Angiogenic balance (sFlt-1/PlGF) and preeclampsia. *Annales d'endocrinologie*. 2016;77(2):97-100.
30. Goulopoulou S, Davidge ST. Molecular mechanisms of maternal vascular dysfunction in preeclampsia. *Trends in molecular medicine*. 2015;21(2):88-97.
31. Staff AC, Benton SJ, von Dadelszen P, Roberts JM, Taylor RN, Powers RW, et al. Redefining preeclampsia using placenta-derived biomarkers. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2013;61(5):932-42.
32. Rasmussen LG, Lykke JA, Staff AC. Angiogenic biomarkers in pregnancy: defining maternal and fetal health. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2015;94(8):820-32.
33. Alahakoon TI, Zhang W, Trudinger BJ, Lee VW. Discordant clinical presentations of preeclampsia and intrauterine fetal growth restriction with similar pro- and anti-angiogenic profiles. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet*. 2014;27(18):1854-9.
34. Steinberg G, Khankin EV, Karumanchi SA. Angiogenic factors and preeclampsia. *Thrombosis research*. 2009;123 Suppl 2:S93-9.
35. Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *The Journal of Clinical Investigation*. 2003;111(5):649-58.
36. Maebayashi Asanuma A, Yamamoto T, Azuma H, Kato E, Yamamoto N, Murase T, et al. Expression of placenta growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase-1, metal-responsive transcription factor-1, heme oxygenase 1 and hypoxia inducible factor-1 α mRNAs in pre-eclampsia placenta and the effect of pre-eclampsia sera on their expression of choriocarcinoma cells. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. 2014;40(10):2095-103.

37. Zhu M, Ren Z, Possomato-Vieira JS, Khalil RA. Restoring placental growth factor-soluble fms-like tyrosine kinase-1 balance reverses vascular hyper-reactivity and hypertension in pregnancy. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2016;311(3):R505-21.
38. Spradley FT, Tan AY, Joo WS, Daniels G, Kussie P, Karumanchi SA, et al. Placental Growth Factor Administration Abolishes Placental Ischemia-Induced Hypertension. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2016;67(4):740-7.
39. Maynard SE, Crawford SL, Bathgate S, Yan J, Robidoux L, Moore M, et al. Gestational angiogenic biomarker patterns in high risk preeclampsia groups. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2013;209(1):53.e1-9.
40. Droge L, Herraiz I, Zeisler H, Schlembach D, Stepan H, Kussel L, et al. Maternal serum sFlt-1/PlGF ratio in twin pregnancies with and without pre-eclampsia in comparison with singleton pregnancies. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2015;45(3):286-93.
41. Lee MS, Cantonwine D, Little SE, McElrath TF, Parry SI, Lim KH, et al. Angiogenic markers in pregnancies conceived through in vitro fertilization. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2015;213(2):212.e1-8.
42. Joy J, Armstrong L, Ardill J, McClure N, Cooke I. Biochemical markers of placental dysfunction in assisted conception. *Human fertility (Cambridge, England)*. 2015;18(4):282-90.
43. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2010;202(2):161.e1-e11.
44. Bian Z, Shixia C, Duan T. First-Trimester Maternal Serum Levels of sFLT1, PGF and ADMA Predict Preeclampsia. *PLoS ONE*. 2015;10(4):e0124684.
45. Khalil A, Maiz N, Garcia-Mandujano R, Penco JM, Nicolaides KH. Longitudinal changes in maternal serum placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase-1 in women at increased risk of pre-eclampsia. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2016;47(3):324-31.
46. Kleinrouweler CE, Wiegerinck MM, Ris-Stalpers C, Bossuyt PM, van der Post JA, van Dabelszen P, et al. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2012;119(7):778-87.
47. Pinheiro CC, Rayol P, Gozzani L, Reis LM, Zampieri G, Dias CB, et al. The relationship of angiogenic factors to maternal and neonatal manifestations of early-onset and late-onset preeclampsia. *Prenatal diagnosis*. 2014;34(11):1084-92.
48. Wikstrom AK, Larsson A, Eriksson UJ, Nash P, Norden-Lindeberg S, Olovsson M. Placental growth factor and soluble FMS-like tyrosine kinase-1 in early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstetrics and gynecology*. 2007;109(6):1368-74.
49. Allen RE, Rogozinska E, Cleverly K, Aquilina J, Thangaratinam S. Abnormal blood biomarkers in early pregnancy are associated with preeclampsia: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014;182:194-201.
50. Tsiakkas A, Saiid Y, Wright A, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 30-34 weeks' gestation. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2016;215(1):87.e1-e17.
51. Wright D, Krajewska K, Bogdanova A, Wright A, Nicolaides KH. Maternal serum soluble fms-like tyrosine kinase-1 at 22 and 32 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2016;47(6):755-61.
52. Wright D, Syngelaki A, Akolekar R, Poon LC, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal characteristics and medical history. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2015;213(1):62.e1-10.

53. Poon LC, Nicolaides KH. Early Prediction of Preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology International*. 2014;2014:297397.
54. Crovetto F, Figueras F, Triunfo S, Crispi F, Rodriguez-Sureda V, Dominguez C, et al. First trimester screening for early and late preeclampsia based on maternal characteristics, biophysical parameters, and angiogenic factors. *Prenatal diagnosis*. 2015;35(2):183-91.
55. Al-Rubaie Z, Askie LM, Ray JG, Hudson HM, Lord SJ. The performance of risk prediction models for pre-eclampsia using routinely collected maternal characteristics and comparison with models that include specialised tests and with clinical guideline decision rules: a systematic review. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2016;123(9):1441-52.
56. Poon LC, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2009;53(5):812-8.
57. Akolekar R, Syngelaki A, Poon L, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. *Fetal diagnosis and therapy*. 2013;33(1):8-15.
58. Myatt L, Clifton RG, Roberts JM, Spong CY, Hauth JC, Varner MW, et al. First-trimester prediction of preeclampsia in nulliparous women at low risk. *Obstetrics and gynecology*. 2012;119(6):1234-42.
59. Myers JE, Kenny LC, McCowan LM, Chan EH, Dekker GA, Poston L, et al. Angiogenic factors combined with clinical risk factors to predict preterm pre-eclampsia in nulliparous women: a predictive test accuracy study. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2013;120(10):1215-23.
60. Giguere Y, Masse J, Theriault S, Bujold E, Lafond J, Rousseau F, et al. Screening for pre-eclampsia early in pregnancy: performance of a multivariable model combining clinical characteristics and biochemical markers. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2015;122(3):402-10.
61. Benton SJ, Hu Y, Xie F, Kupfer K, Lee SW, Magee LA, et al. Angiogenic factors as diagnostic tests for preeclampsia: a performance comparison between two commercial immunoassays. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2011;205(5):469.e1-8.
62. Forest JC, Theriault S, Masse J, Bujold E, Giguere Y. Soluble Fms-like tyrosine kinase-1 to placental growth factor ratio in mid-pregnancy as a predictor of preterm preeclampsia in asymptomatic pregnant women. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2014;52(8):1169-78.
63. Perales A, Delgado JL, De La Calle M, García-Hernández JA, Escudero AI, Campillos JM, et al. sFlt-1/PlGF for early-onset pre-eclampsia prediction: STEPS (Study of Early Pre-eclampsia in Spain). *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2016:n/a-n/a.
64. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennstrom M, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *The New England journal of medicine*. 2016;374(1):13-22.
65. Chappell LC, Duckworth S, Seed PT, Griffin M, Myers J, Mackillop L, et al. Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation*. 2013;128(19):2121-31.
66. Stepan H, Hund M, Gencay M, Denk B, Dinkel C, Kaminski WE, et al. A comparison of the diagnostic utility of the sFlt-1/PlGF ratio versus PlGF alone for the detection of preeclampsia/HELLP syndrome. *Hypertension in pregnancy*. 2016;35(3):295-305.
67. Liu Y, Zhao Y, Yu A, Zhao B, Gao Y, Niu H. Diagnostic accuracy of the soluble Fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio for preeclampsia: a meta-analysis based on 20 studies. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2015;292(3):507-18.
68. Frampton GK, Jones J, Rose M, Payne L. Placental growth factor (alone or in combination with soluble fms-like tyrosine kinase 1) as an aid to the assessment of women with suspected pre-eclampsia: systematic review and economic analysis. *Health technology assessment (Winchester, England)*. 2016;20(87):1-160.

69. Alvarez-Fernandez I, Prieto B, Rodriguez V, Ruano Y, Escudero AI, Alvarez FV. New biomarkers in diagnosis of early onset preeclampsia and imminent delivery prognosis. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2014;52(8):1159-68.
70. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P, et al. New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2014;63(2):346-52.
71. NICE-GUIDANCE P. PlGF-based testing to help diagnose suspected pre-eclampsia (Triage PlGF test, Elecsys immunoassay sFlt-1/PlGF ratio, DELFIA Xpress PlGF 1-2-3 test, and BRAHMS sFlt-1 Kryptor/ BRAHMS PlGF plus Kryptor PE ratio). 2016 ed: NICE; 2016. p. 2-47.
72. van Helden J, Weiskirchen R. Analytical evaluation of the novel soluble fms-like tyrosine kinase 1 and placental growth factor assays for the diagnosis of preeclampsia. *Clinical biochemistry*. 2015;48(16-17):1113-9.
73. Andersen LB, Frederiksen-Moller B, Work Havelund K, Dechend R, Jorgensen JS, Jensen BL, et al. Diagnosis of preeclampsia with soluble Fms-like tyrosine kinase 1/placental growth factor ratio: an inter-assay comparison. *Journal of the American Society of Hypertension : JASH*. 2015;9(2):86-96.
74. Levine RJ, Thadhani R, Qian C, Lam C, Lim KH, Yu KF, et al. Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia. *Jama*. 2005;293(1):77-85.
75. Bahlmann F, Al Naimi A. Using the angiogenic factors sFlt-1 and PlGF with Doppler ultrasound of the uterine artery for confirming preeclampsia. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2016;294(6):1133-9.
76. Stubert J, Ullmann S, Bolz M, Kulz T, Dieterich M, Richter DU, et al. Prediction of preeclampsia and induced delivery at <34 weeks gestation by sFLT-1 and PlGF in patients with abnormal midtrimester uterine Doppler velocimetry: a prospective cohort analysis. *BMC pregnancy and childbirth*. 2014;14:292.
77. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, et al. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation*. 2012;125(7):911-9.
78. Baltajian K, Bajracharya S, Salahuddin S, Berg AH, Geahchan C, Wenger JB, et al. Sequential plasma angiogenic factors levels in women with suspected preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2016;215(1):89.e1-e10.
79. Dragan I, Georgiou T, Prodan N, Akolekar R, Nicolaides KH. Screening for pre-eclampsia using sFlt-1/PlGF ratio cut-off of 38 at 30–37 weeks' gestation. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2017;49(1):73-7.
80. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, Cortez JM, Pappas A, Tarca AL, et al. Plasma Concentrations of Angiogenic/Anti-Angiogenic Factors Have Prognostic Value in Women Presenting With Suspected Preeclampsia to the Obstetrical Triage Area: A Prospective Study. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*. 2014;27(2):132-44.
81. Molvarec A, Gullai N, Stenczer B, Fugedi G, Nagy B, Rigo J, Jr. Comparison of placental growth factor and fetal flow Doppler ultrasonography to identify fetal adverse outcomes in women with hypertensive disorders of pregnancy: an observational study. *BMC pregnancy and childbirth*. 2013;13:161.
82. Saleh L, Verdonk K, Jan Danser AH, Steegers EA, Russcher H, van den Meiracker AH, et al. The sFlt-1/PlGF ratio associates with prolongation and adverse outcome of pregnancy in women with (suspected) preeclampsia: analysis of a high-risk cohort. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016;199:121-6.
83. Townsend R, O'Brien P, Khalil A. Current best practice in the management of hypertensive disorders in pregnancy. *Integrated blood pressure control*. 2016;9:79-94.

84. Young B, Levine RJ, Salahuddin S, Qian C, Lim KH, Karumanchi SA, et al. The use of angiogenic biomarkers to differentiate non-HELLP related thrombocytopenia from HELLP syndrome. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet.* 2010;23(5):366-70.
85. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, et al. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *American journal of obstetrics and gynecology.* 2012;206(1):58.e1-8.
86. Engels T, Pape J, Schoofs K, Henrich W, Verlohren S. Automated measurement of sFlt1, PlGF and sFlt1/PlGF ratio in differential diagnosis of hypertensive pregnancy disorders. *Hypertension in pregnancy.* 2013;32(4):459-73.
87. Salahuddin S, Lee Y, Vadnais M, Sachs BP, Karumanchi SA, Lim KH. Diagnostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in hypertensive diseases of pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology.* 2007;197(1):28.e1-6.
88. Masuyama H, Nobumoto E, Okimoto N, Inoue S, Segawa T, Hiramatsu Y. Superimposed preeclampsia in women with chronic kidney disease. *Gynecologic and obstetric investigation.* 2012;74(4):274-81.
89. de Jesus GR, de Jesus NR, Levy RA, Klumb EM. The use of angiogenic and antiangiogenic factors in the differential diagnosis of pre-eclampsia, antiphospholipid syndrome nephropathy and lupus nephritis. *Lupus.* 2014;23(12):1299-301.
90. Qazi U, Lam C, Karumanchi SA, Petri M. Soluble Fms-like tyrosine kinase associated with preeclampsia in pregnancy in systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology.* 2008;35(4):631-4.
91. Verdonk K, Visser W, Russcher H, Danser AH, Steegers EA, van den Meiracker AH. Differential diagnosis of preeclampsia: remember the soluble fms-like tyrosine kinase 1/placental growth factor ratio. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979).* 2012;60(4):884-90.
92. Chaiworapongsa T, Chaemsathong P, Korzeniewski SJ, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 2: prediction, prevention and management. *Nature reviews Nephrology.* 2014;10(9):531-40.
93. Thadhani R, Kisner T, Hagmann H, Bossung V, Noack S, Schaarschmidt W, et al. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation.* 2011;124(8):940-50.
94. Ohkuchi A, Hirashima C, Takahashi K, Suzuki H, Matsubara S. Prediction and prevention of hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertens Res.* 2017;40(1):5-14.
95. Hund M, Verhagen-Kamerbeek W, Reim M, Messinger D, van der Does R, Stepan H. Influence of the sFlt-1/PlGF ratio on clinical decision-making in women with suspected preeclampsia--the PreOS study protocol. *Hypertension in pregnancy.* 2015;34(1):102-15.
96. Klein E, Schlembach D, Ramoni A, Langer E, Bahlmann F, Grill S, et al. Influence of the sFlt-1/PlGF Ratio on Clinical Decision-Making in Women with Suspected Preeclampsia. *PLoS One.* 2016;11(5):e0156013.
97. Schnettler WT, Dukhovny D, Wenger J, Salahuddin S, Ralston SJ, Rana S. Cost and resource implications with serum angiogenic factor estimation in the triage of pre-eclampsia. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology.* 2013;120(10):1224-32.
98. Cohen AL, Wenger JB, James-Todd T, Lamparello BM, Halprin E, Serdy S, et al. The association of circulating angiogenic factors and HbA1c with the risk of preeclampsia in women with preexisting diabetes. *Hypertension in pregnancy.* 2014;33(1):81-92.
99. Bakalis S, Peeva G, Gonzalez R, Poon LC, Nicolaides KH. Prediction of small-for-gestational-age neonates: screening by biophysical and biochemical markers at 30-34 weeks. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.* 2015;46(4):446-51.
100. Gomez-Arriaga PI, Herraiz I, Lopez-Jimenez EA, Gomez-Montes E, Denk B, Galindo A. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: usefulness in diagnosis of pre-eclampsia.

- Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. 2013;41(5):530-7.
101. Lehnen H, Mosblech N, Reineke T, Puchooa A, Menke-Mollers I, Zechner U, et al. Prenatal Clinical Assessment of sFlt-1 (Soluble fms-like Tyrosine Kinase-1)/PlGF (Placental Growth Factor) Ratio as a Diagnostic Tool for Preeclampsia, Pregnancy-induced Hypertension, and Proteinuria. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2013;73(5):440-5.
 102. Valino N, Giunta G, Gallo DM, Akolekar R, Nicolaides KH. Biophysical and biochemical markers at 35-37 weeks' gestation in the prediction of adverse perinatal outcome. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2016;47(2):203-9.
 103. Sakyi SA, Owiredun WK, Anto EO, Turpin CA, Ephraim RK. Individual and Combined Diagnostic Accuracy of Biochemical Markers for Detecting Early On-Set Preeclampsia. *SOJ Gynecol Obstet Womens Health*. 2016;2(1):9.
 104. Andrietti S, Silva M, Wright A, Wright D, Nicolaides KH. Competing-risks model in screening for pre-eclampsia by maternal factors and biomarkers at 35-37 weeks' gestation. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2016;48(1):72-9.

VI. Anexos

Anexo I – Modelos combinados de *screening* de 1º T

Referência	População (n)	IG de avaliação (sem)	Modelo	TD (%) (TFP 5%)	Sens (%)	Esp (%)	AUC
Poon et al (2009)⁽⁵⁶⁾	7797 (157 PE)	11-13	HM, PlGF, PAPP-A, PAM, DAU	PE-P: 93.1 PE-T: 35.7			
Myatt et al (2012)⁽⁵⁸⁾	683 (174 PE)		Raça, PAS, IMC, escolaridade, PlGF		46	80	0.71
			Raça, PAS, IMC, escolaridade, PlGF, PAAP-A, ADAM-12		46	80	0.73
Akolekar et al (2013)⁽⁵⁷⁾	57458 (1426 PE)	11-13	HM; PlGF, PAPP-A, PAM, DAU	PE: 38 Parto PE < 34 sem: 93 Parto PE >34 sem: 61			
Myers et al (2013)⁽⁵⁹⁾	3529 (187 PE)	14-16	HM, PlGF		45		0.84
			HM, PlGF, DAU		47		0.85
Crovetto et al (2015)⁽⁵⁴⁾	9462 (303 PE)	8-13 ⁺⁶	HM, PAM, DAU, PlGF, sFlt1	PE-P: 87.7 PE-T: 68.3			PE-P: 0.98
							PE-T: 0.87
Giguère et al (2014)⁽⁶⁰⁾	7929 (139 PE)	10-18	PAM, IMC, PAPP-A, PlGF, inibina-A e sFlt1		31		0.77
Zhen Bian et al (2015)⁽⁴⁴⁾	144 (44 PE)	12-16	PlGF, ADMA		95.5	85.4	0.902

%, percentagem; ADAM-12, *a desintegrin and metalloprotease 12*; ADMA, *Asymmetric dimethylarginine*; AUC, *area under the curve*; DAU, *fluxometria doppler* da artéria uterina; Esp, especificidade; HM, história materna; IG, idade gestacional; IMC, índice de massa corporal; n, número; PAM, pressão arterial média; PAPP-A, *pregnancy-associated plasma protein-A*; PAS, pressão arterial sistólica; PlGF, *Placental Growth Factor*; PE, Pré-eclâmpsia; PE-P, Pré-eclâmpsia precoce; PE-T, Pré-eclâmpsia tardia; sem, semanas; Sens, sensibilidade; sFlt1, *soluble FMS-like tyrosine kinase 1*; TD, taxa de detecção; TFP, taxa de falsos positivos

Anexo II – Poder preditivo dos biomarcadores angiogénicos

Estudo	População (n)	IG de dos. (sem)	Variável	Marcador	TD (%) (TFP 5%)	Sens (%)	Esp (%)	AUC	VPN (%)	VPP (%)
Moore Simas et al (2007)⁽²⁶⁾	94 (12 PE)	22-26	PE precocce	sFlt1				0.90		
				sFlt1/PlGF				0.97		
Sunderji et al (2010)⁽²⁵⁾	457 (48 PE)	20-36	PE	PlGF				0.98		
				sFlt1				0.98		
				sFlt1/PlGF				0.99		
Verlohren et al (2010)⁽⁴³⁾	351 (71 PE)	ND	PE	PlGF				0.92		
				sFlt1				0.91		
				sFlt1/PlGF				0.95		
			PE - P	sFlt1/PlGF				0.97		
			PE - T	sFlt1/PlGF				0.89		
Benton et al (2011)⁽⁶¹⁾	128 (44 PE)	ND (ao diagnóstico nos de PE)	PE	PlGF		77	95	0.94	89	89
				sFlt1/PlGF		59	100	0.95	82	100
			PE - P	PlGF		100	96	0.99	100	93
				sFlt1/PlGF		64	100	0.99	84	100
			PE - T	PlGF		47	95	0.90	78	82
				sFlt1/PlGF		53	100	0.86	80	100
Gómez- Arriaga et al (2012)⁽¹⁰⁰⁾	92 (72 PE)	>20 sem	PE	sFlt1/PlGF		50	70		70	50
Verlohren et al (2013)⁽⁷⁰⁾	468 (234 PE)	ND	PE	PlGF				0.91		
				sFlt1				0.92		
				sFlt1/PlGF				0.94		
Álvarez- Fernández et al (2013)⁽⁶⁹⁾	257 (74 PE)	20-41	PE - P	PlGF				0.87		
				sFlt1				0.88		
				sFlt1/PlGF				0.90		
			PE - T	PlGF				0.68		
				sFlt1				0.84		
				sFlt1/PlGF				0.83		
Chappell et al (PELICAN) (2013)⁽⁶⁵⁾	625 (346 PE)	20-35	Parto por PE em 14 dias	PlGF				0.87		
Forest et al (2013)⁽⁶²⁾	518 (111 PE)	20-32	PE	sFlt1/PlGF		32.4		0.71	98.7	10.4
			PE - P	sFlt1/PlGF		77.8		0.98	100	2.5
Lehnen et al (2013)⁽¹⁰¹⁾	173 (63 PE)	21-41	PE	sFlt1/PlGF		59.38	93.62		77.19	86.36
			PE-P	sFlt1/PlGF		62.50	100.0		40.00	100.0
			PE-T	sFlt1/PlGF		58.33	93.33		80.77	82.35

(Continuação)

Estudo	População (n)	IG de dos. (sem)	Variável	Marcador	TD (%) (TFP 5%)	Sens (%)	Esp (%)	AUC	VPN (%)	VPP (%)
Stubert et al (2014) ⁽⁷⁶⁾	50 (12 PE)	19-26 ⁺⁶	PE	PlGF		58.3	78.9		85.7	46.7
				sFlt1		16.7	94.7		78.3	50.0
				sFlt1/PlGF		66.7	89.5		89.5	66.7
			PE - P	PlGF		50.0	73.8		88.6	26.7
				sFlt1		25.0	95.2		87.0	50.0
				sFlt1/PlGF		75.0	85.7		94.7	50.0
Andersen et al (2015) ⁽⁷³⁾	115 (39 PE)	20-42	PE	PlGF		75.0	73.9		97.1	20.0
				sFlt1		0.0	91.3		91.3	0.0
				sFlt1/PlGF		50.0	78.3		94.7	16.7
			PE - P	PlGF				0.75		
				sFlt1/PlGF				0.93		
				sFlt1/PlGF				0.68		
Valino et al (2015) ⁽¹⁰²⁾	3953 (65 PE)	35-37 ⁺⁶	PE	sFlt1+PlGF+ PAM	73.3 (TFP 10%)			0.913		
Stepan et al (2016) ⁽⁶⁶⁾	569 (178 PE)	ND	PE	PlGF				0.92		
				sFlt1/PlGF				0.94		
			PE-P	PlGF		96.4	88.5	0.97		
				sFlt1/PlGF		94.0	99.4	0.98		
			PE-T	PlGF		90.5	64.5	0.86		
				sFlt1/PlGF		89.5	95.4	0.89		
Perales et al (2016) (STEPS) (63)	729 (78 PE)	24	PE-P	PlGF				0.81		
				sFlt1				0.71		
				sFlt1/PlGF				0.86		
				sFlt1/PlGF + HM + PAM + DAU	72			0.95		
Tsiakkas et al (2016) ⁽⁵⁰⁾	123406 (2748 PE)	30-34 ⁺⁶	PE < 37sem	PlGF	86			0.972		
				sFlt1	91			0.981		
				sFlt1 + PlGF	96			0.992		
				sFlt1 + PlGF + DAU + PAM	98			0.996		
			PE ≥ 37 sem	PlGF				0.834		
				sFlt1				0.825		
				sFlt1 + PlGF	41			0.862		
				sFlt1 + PlGF + DAU + PAM	40					
					50					
					54			0.875		
Sakyi et al (2016) ⁽¹⁰³⁾	165 (110 PE)	20-40	PE - P	PlGF		44	90	0.70	50	88
				sFlt1		50	85	0.65	52	84
				sFlt1/PlGF		81	65	0.82	71	78
				PlGF/sFlt1		97	75	0.83	92	84
Andrietti et al (2016) ⁽¹⁰⁴⁾	3920 (65 PE)	35-37	PE termo	PlGF + HM	53		0.88			
				sFlt1+HM	64		0.91			
				sFlt1+PlGF	69		0.92			
				sFlt1+PlGF+ DAU+PAM	75		0.94			

%, percentagem; AUC, *area under the curve*; DAU, fluxometria *doppler* da artéria uterina; Dos., Doseamento de biomarcadores; Esp, especificidade; HM, história materna; IG, idade gestacional; n, número; ND, Não definido; PAM, pressão arterial média; PlGF, *Placental Growth Factor*; PE, Pré-eclâmpsia; PE-P, Pré-eclâmpsia precoce; PE-T, Pré-eclâmpsia tardia; sem, semanas; Sens, sensibilidade; sFlt1, soluble *FMS-like tyrosine kinase 1*; TD, taxa de deteção; TFP, taxa de falsos positivos; VPN, Valor preditivo negativo; VPP, Valor preditivo positivo

Anexo III – Utilização do *Elecsys* no 2º e 3ºT, e respetivos *cut-offs*. (*Adaptado de NICE, Diagnostics Guidance*)

			sFlt1/PlGF
Ajuda no diagnóstico de PE	das 20 sem. até às 33sem. ^{+6 dias}	<i>Cut-off</i> de exclusão	33
		<i>Cut-off</i> de diagnóstico	85
	das 34 sem. até ao parto	<i>Cut-off</i> de exclusão	33
		<i>Cut-off</i> de diagnóstico	110
Predição de PE a curto-prazo (24sem.-36sem.^{+6 dias})		Excluir PE por 1 semana	< 38
		Diagnóstico de PE em 4 semanas	> 38

A informação contida neste anexo tem por base os estudos publicados por Verlohren et al (2013)⁽⁷⁰⁾ e Zeisler et al (2016)⁽⁶⁴⁾, levados a cabo para validação do *Elecsys* na abordagem de PE.

PE, Pré-eclâmpsia; PlGF, *Placental Growth Factor*; sem., semanas; sFlt1, soluble *FMS-like tyrosine kinase* 1.

Anexo IV – *Cut-off* e respetivo valor preditivo

Estudo	População (n)	Cut-off (sFlt1/PlGF)	Variável	Sens (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)
Verlohren et al (2010) ⁽⁴³⁾	351 (71 PE)	85	PE	82	95		
			PE - P	89	97		
			PE - T	74	89		
Verlohren et al (2013) ⁽⁷⁰⁾	468 (234 PE)	33	PE-P	95.0	94.0		
		85	PE-P	88.0	99.5		
		33	PE-T	89.6	73.1		
		110	PE-T	58.2	95.5		
Álvarez-Fernández et al (2013) ⁽⁶⁹⁾	257 (74 PE)	23	PE - P	92	81.1	76.7	93.8
		85	PE - P	56.0	97.3	93.3	76.6
		45	PE - T	83.7	72.6	50.6	93
		85	PE - T	51.0	88.4	59.5	84.3
Stubert et al (2014) ⁽⁷⁶⁾	50 (12 PE)	13	PE	66.7	86.8	61.5	89.2
			PE - P	75.0	83.3	51.4	93.4
Saleh et al (2015) ⁽⁸²⁾	107 (62 PE)	85	PE	91	98	98	83
Andersen et al (2015) ⁽⁷³⁾	115 (39 PE)	85	PE	51.3	84.2	62.5	77.1
			PE - P	77.8	100	100	87.5
			PE - T	43.3	80.6	52	74.6
Helden et al (2015) ⁽⁷²⁾	102 (51 PE)	70	PE	94.12	96.08		
		85	PE	96.08	88.24	89.09	95.74
Zeisler et al PROGNOSIS (2016) ⁽⁶⁴⁾	1050 (199 PE)	38	Excluir PE em 1 sem	80.0	78.3		99.3
		38	Diagnosticar PE em 4 sem	66.2	83.1	36.7	
Dragan et al (2016) ⁽⁷⁹⁾	12305 (318 PE)	38	Parto por PE < 1 sem			1.9	99.97

Estudo	População (n)	Cut-off (PlGF)	Variável	Sens (%)	Esp (%)	VPP (%)	VPN (%)
Chappell et al (PELICAN) (2013) ⁽⁶⁵⁾	625 (346 PE)	< P 5	Parto por PE em 14 dias	96	55	43	98
		< 12 pg/ml	Parto por PE em 14 dias	63	90	70	87
		<100pg/ml	Parto por PE em 14 dias	96	56	44	98

%, percentagem; Esp, especificidade; n, número; PlGF, *Placental Growth Factor*; P, percentil; PE, Pré-eclâmpsia; PE-P, Pré-eclâmpsia precoce; PE-T, Pré-eclâmpsia tardia; sem, semanas; Sens, sensibilidade; sFlt1, soluble *FMS-like tyrosine kinase 1*; VPN, Valor preditivo negativo; VPP, Valor preditivo positivo